

(原著第二版)

Encyclopedia of  
Pharmaceutical Technology

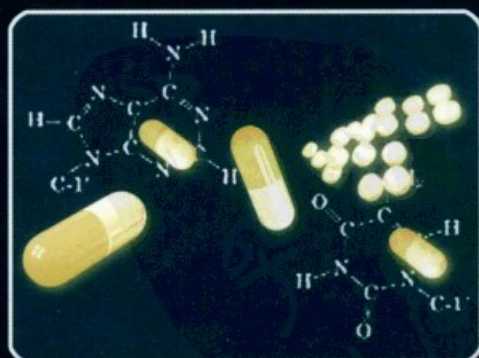
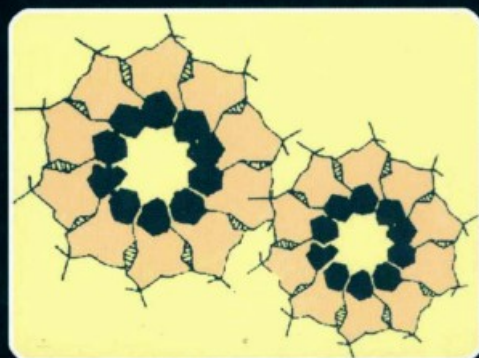
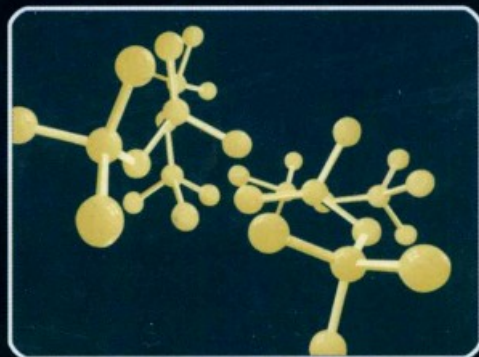
# 制剂技术 百科全书

第一卷

主 编 [美] J.斯沃布里克

[美] J.C.博伊兰

主 译 王 浩 侯惠民



科学出版社  
[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

informa  
healthcare



- 
- 由200多位国际知名专家合作编写，被誉为药学工作者的“圣经”
  - 由制剂领域的权威专家组织翻译
  - 理论性强：详细阐述了与药剂相关的基本理论
  - 实用性佳：众多的实例具有很好的实践指导作用
  - 内容新颖全面：涉及药剂及其相关学科各个方面，反映了这些领域的最新进展
  - 适用面广：对从事药物制剂研究、教学和生产的药学工作者均有重要的参考价值
- 

ISBN 978-7-03-023131-4



9 787030 231314 >

定价：680.00 元（共三卷）



# 制剂技术百科全书

Encyclopedia of Pharmaceutical Technology

(原著第二版)

## 第一卷

主 编 〔美〕 J. 斯沃布里克

〔美〕 J. C. 博伊兰

主 译 王 浩 侯惠民

副主译 陈桂良 陆伟根 陆伟跃



[http://www.chinapat.com/  
jjb2005精品书柜](http://www.chinapat.com/jjb2005精品书柜)

No: | QQ | 429122294

现代中药制药论坛

科 学 出 版 社

北 京



图字: 01-2005-3962 号

## 内 容 简 介

本书为 *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 第二版的中文翻译版, 涉及药剂学的各个方面, 收录了当代药剂学以及相关领域权威学者的著作 200 多篇。在药物剂型的设计、开发、立法、生产以及商业化方面给予了较多关注, 详细介绍了制剂技术, 强调了生物药剂学、分析化学、质量保证、药物安全性以及生产过程在制剂领域的重要性。

本书内容翔实, 参考文献丰富, 理论性和实用性强。对从事药物制剂研究、教学和生产的药学工作者有重要的参考价值。

*Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 2nd Edition, a three volume set  
James Swarbrick, James C. Boylan

Copyright © 2002 by Marcel Dekker, Inc.

Authorized translation from English language edition published by Marcel Dekker, part of Taylor & Francis Group LLC. All rights reserved. 本书原版由 Taylor & Francis 出版集团旗下 Marcel Dekker 出版公司出版, 并经其授权翻译出版。版权所有, 侵权必究。

Copies of this book sold without An Informa Healthcare sticker on the cover are unauthorized and illegal. 本书封面贴有 Informa Healthcare 防伪标签, 未贴防伪标签属未获授权的非法行为。

### 图书在版编目(CIP)数据

制剂技术百科全书/(美)J. 斯沃布里克 (Swarbrick J.), (美)J. C. 博伊兰 (Boylan J. C.) 主编; 王浩, 侯惠民主译. 原著第二版. —北京: 科学出版社, 2009

ISBN 978-7-03-023131-4

I. 制… II. ①斯… ②博… ③王… ④侯… III. 制药工业-百科全书 IV. TQ46-61

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 153361 号

策划编辑: 周巧龙 张淑晓 周 强 / 责任校对: 钟洋等

责任印制: 钱玉芬 / 封面设计: 耕者设计工作室

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

2009 年 1 月第 一 版 开本: 889×1194 1/16

2009 年 1 月第一次印刷 印张: 174 3/4

印数: 1—2 000 字数: 6 542 000

定价: 680.00 元 (共三卷)

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈科印〉)



## 翻译委员会

(以姓氏拼音排序)

- |     |                          |
|-----|--------------------------|
| 陈 钢 | 上海市食品药品检验所，主任药师          |
| 陈桂良 | 上海市食品药品检验所，主任药师          |
| 戴经铨 | 上海医药工业研究院，研究员            |
| 杜敏琼 | 上海医药工业研究院，研究员            |
| 傅 民 | 上海现代制药股份有限公司，高级工程师       |
| 葛庆华 | 药物制剂国家工程研究中心，研究员         |
| 龚 忠 | 上海现代制药股份有限公司，高级工程师       |
| 何 军 | 上海医药工业研究院，副研究员           |
| 贺 芬 | 药物制剂国家工程研究中心，研究员         |
| 侯惠民 | 药物制剂国家工程研究中心，研究员，中国工程院院士 |
| 乐 健 | 上海市食品药品检验所，副主任药师         |
| 刘 浩 | 上海市食品药品检验所，主任药师          |
| 陆伟根 | 上海医药工业研究院，研究员            |
| 陆伟跃 | 复旦大学，教授                  |
| 潘 俊 | 复旦大学，副教授                 |
| 唐黎明 | 上海市食品药品检验所，主任药师          |
| 王 浩 | 药物制剂国家工程研究中心，研究员         |
| 王国平 | 上海医药工业研究院，研究员            |
| 王其灼 | 上海医药工业研究院，研究员            |
| 徐信昌 | 药物制剂国家工程研究中心，高级工程师       |
| 杨福秋 | 上海医药工业研究院，研究员            |
| 易大年 | 上海医药工业研究院，研究员            |



## 翻译人员

(以姓氏拼音排序)

鲍 英	蔡宏奎	蔡培林	柴旭煜	常 艳	陈 昂
陈 芳	陈 卫	陈 燕	陈 阳	陈桂良	陈满仓
陈志明	陈祝康	程志红	邓万定	丁存刚	杜敏琼
杜 玥	傅 民	高 凡	高东雁	葛庆华	龚 忠
龚明涛	韩 雪	何 军	何 萍	何 蔚	贺 芬
贺 宁	洪赞飞	侯惠民	侯 建	胡蓉梅	黄 冲
黄 卓	简龙海	金 樑	金 蔚	金玉琼	乐 健
李 翀	李 丁	李 杰	李 军	李 明	李 妍
李瑞新	刘 丹	刘 敏	刘小叶	刘笑芬	卢文芸
吕坚伟	栾福成	栾瀚森	罗大忱	罗宏伟	罗华菲
马少华	潘 峰	潘 弘	潘 俊	邱维佳	裘 渊
沈航孝	盛民立	石敬敏	宋浩亮	孙冠男	唐海霞
陶芸莺	滕 洋	万丽卿	王 浩	王 娟	王国平
王莉莉	王恬力	王文苹	魏 刚	闻洪亮	吴金金
吴小虎	吴晓盈	奚 泉	谢 操	谢家树	熊龙启
徐 楠	徐 喆	严幼达	羊 臻	杨 莉	于垂亮
岳 鹏	战 丹	张 辉	张 军	张 柳	张春娜
张小红	张晓红	张毅兰	张玉波	赵 铁	赵 雁
赵惠清	赵晓群	赵炎龙	支晓瑾	周 洁	周 臻
周明眉	周晓丽	周晓通	周玉波	朱 娟	朱 萍
祝 林					



# 中文版序

药物制剂学科在近些年发展迅速，成为新药研发技术链上越来越重要的一环。药剂这门应用学科涉及剂型设计、生产设备、分析测试和法规管理等各个方面，需要技术人员有较广的知识面。

美国 Marcel Dekker 出版公司出版的 *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 是一部全面介绍制剂及相关领域各个方面的专业知识的百科全书。原书通俗易懂，著者都是该领域的权威学者，并附有大量的参考文献。

本书涵盖与制剂相关的剂型的设计与制备、分析测试技术、美国和全球的法规要求、中试工厂和制剂设备的设计、药物临床试验的管理、药品的推广和促销等各个方面。对于药剂学科的学生或技术人员都有较高的参考价值。

本书的主译和副主译等均是在药剂学领域从事多年科研和教学的药剂专家，有丰富的经验。在他们的组织下，由我院药物制剂国家工程研究中心和制剂部、上海市食品药品检验所、复旦大学药学院以及我院所属上海现代制药股份有限公司的众多人员集体翻译了这部篇幅宏大的专著。这种努力，值得称赞。

相信本书的出版，必将有益于我国制剂的科研、生产和教学。

朱宝泉

上海医药工业研究院院长，研究员，博士生导师

2008 年 2 月

# 译者说明

《制剂技术百科全书》包含了药剂学的各个方面，收录了当代药剂学以及相关领域权威学者的著作。原书第一版的第一卷于1988年出版，最后一卷于2001年出版。这套一共20卷的百科全书包括正文、图示、表格、参考文献以及索引一共9000多页，涵盖了300多个条目，范围非常宽。第二版在药物剂型的发现、开发、立法、生产以及商业化方面给予了更多关注。不仅详细介绍了制剂技术，还强调了生物药剂学、分析化学、质量保证、药物安全性以及生产过程，但没有把注意力停留在某一个或某一类药的化学和（或）药理学层面。

第二版将近300个条目重新分类整理，使其更有序，便于查阅。同时，将卷数减少到了3卷，每卷都有1000多页，3卷同时出版。新版是旧版的浓缩版，但其内容是一致的。第二版中收录的旧版条目内容都加以更新，还增加了一些新的条目。同时，旧版中的一些相关的条目也被重新整理归到第二版的同一个条目下，反之亦然。条目的调整反映了药剂学科特定领域的最新进展。与旧版相同，第二版的著者都是该领域的权威学者。在第二版于2002年出版后又相继出版了增补本，增加了40多个条目。

在科学出版社的大力支持下，我们决定将这部优秀的书籍介绍给我国的药学科技人员。为此我们组织了药物制剂国家工程研究中心、上海医药工业研究院、上海市食品药品检验所和复旦大学药学院等单位的工作人员及部分研究生进行全书的翻译。

本书的翻译工作得到了上海医药工业研究院老一辈专家王其灼、杨福秋、易大年、戴经铨等的大力支持。科学出版社的编辑为本书的出版也付出了大量的心血。药物制剂国家工程研究中心的栾瀚森、徐瑛、刘笑芬编制了本书的索引，滕洋翻译了原书全部的插图。在此一并致谢。

在本书的翻译过程中，原著第三版已于2007年10月出版了。经过对比，第三版与第二版相同的条目，除了法规部分外，技术部分的修订幅度不大，但增加了50多个条目。希望以后有机会再将这50多条以增补本的形式介绍给大家。

由于原著篇幅很大，翻译、校对的工作量很大。原著内容涉及面广，限于译者的水平，错误和不准确的内容在所难免，希望国内广大药学工作者予以批评指正。

王 浩 侯惠民

2008年10月



# 英文版前言

近年来，药剂学科和技术得到了很大的发展。越来越多的人认识到药物剂型对疾病治疗的重要作用，同时也认识到优化药物在体内的传释过程能推动治疗学的发展。因此，越来越多的专业人员投入到药物及其剂型的设计、研发、生产、测试和法规建立的各个环节，药剂专业水平也在不断提高。

《制剂技术百科全书》是一本独一无二、通俗易懂的药剂学科百科全书，它涵盖了药物制剂技术各个方面的专业知识。对于进行药剂学相关课题的初期准备或者是为了提高某方面专业知识和水平的人来说，都能从本书中找到需要的信息。

17年来，我们一直在整理相关资料，同时也与相关作者保持联系。1988年《制剂技术百科全书》第一版诞生了，第一版的最后一卷（第20卷）也于2001年出版。该书出版后，其实用性得到了大家的认可，于是我们着手准备第二版。第二版涵盖了药剂及其相关领域的最新进展，该书不仅印刷出版，也可以从网上获得，并且每季度都会更新并进行扩充。

《制剂技术百科全书》印刷版共3卷，3000多页，由200多个主题条目组成。每篇文章都是由相关领域的专家撰写的，反映了该领域的最新研究进展。

《制剂技术百科全书》电子版包括了印刷版的全部内容，并且还提供了关键词搜索引擎以及彩色图示。新加入的条目以及修订条目会每季度更新并且将更新内容以电子版形式提供给用户。

在此，我们要感谢在本书撰写和印刷过程中无数给予过帮助的人们。特别要感谢本书各位作者的努力。许多作者撰写了多篇文章。显然，没有这些世界级科学家的聪明才智和辛勤工作，就没有《制剂技术百科全书》的诞生。

出版商 Marcel Dekker, Inc. 一直以来都对我们的工作很支持，在编辑出版方面给了我们很大的帮助。特别要感谢百科全书编辑部的经理 Carolyn Hall，她的鼎力相助使本书得以顺利出版。

最后，我们也不会忘了要感谢你们，亲爱的读者朋友们，感谢你们一直以来的关注和支持。希望本书能让你们满意。同时，也随时欢迎你们的批评指正。

James Swarbrick

James C. Boylan

# 目 录

中文版序  
译者说明  
英文版前言

## 第一卷

半固体制剂 .....	1
保证药品质量的微生物学 .....	15
层流设备的应用和操作 .....	23
超级崩解剂的性质及其作用 .....	38
超声波雾化器 .....	51
承包生产 .....	58
处方药与非处方药的广告及促销 .....	66
代谢物鉴定在药物发现中的应用 .....	73
单克隆抗体在药物靶向给药系统中的应用 .....	79
滴定测量法 .....	99
淀粉及其衍生物 .....	111
电位分析 .....	117
锭剂 .....	129
定量吸入剂 .....	133
动物在药物研发中的作用 .....	146
对受控生产过程的微生物监控 .....	156
多肽和蛋白质的非侵入性给药 .....	170
多肽和蛋白质的经皮吸收 .....	185
多肽及蛋白质的肺部吸收 .....	198
儿科用药和剂型 .....	207
耳用制剂 .....	224
翻转混合器中的混合与分层 .....	232
仿制药物及其等效性 .....	245
放射性化学分析方法 .....	249
非处方药 .....	259
非环糊精类药物复合物技术 .....	272
非临床研究质量管理规范综述 .....	280
非注射给药剂型 .....	287
分配系数 .....	297
分析方法的验证 .....	303
粉末和固体制剂用赋形剂 .....	320
粉末剂型 .....	329
粉末取样 .....	338
辐照灭菌法 .....	346
赋形剂：安全性评价 .....	355
赋形剂：在注射剂中的作用 .....	360

FDA: 药品管理者 .....	380
干粉吸入剂 .....	388
干粉吸入剂: 新兴的技术 .....	399
干热灭菌法 .....	405
干燥和干燥设备 .....	410
工艺放大和产品批准后的变更 .....	422
共沉淀和熔融 .....	426
固体材料的流动性 .....	432
光谱分析方法: 红外光谱学 .....	450
光谱分析方法: 近红外光谱技术 .....	461
光谱分析方法: 漫反射光谱分析 .....	466
光谱分析技术: 荧光光谱法 .....	475
光谱分析技术: 原子吸收和发射分光光度法 .....	488
光谱分析技术: 质谱法 .....	494
光谱分析技术: 紫外可见分光光度法 .....	506
过滤器和过滤 .....	517
含有明胶的制剂的溶出特性改变 .....	525
罕用药物 .....	538
化妆品及其与药物的关系 .....	544
环糊精包合技术 .....	550
环氧乙烷灭菌法 .....	575
混悬剂 .....	583
火焰光度法 .....	593
极谱分析和伏安法分析 .....	596
挤出工艺和挤出设备 .....	606
计算机系统的验证 .....	618
计算机药物辅助设计 .....	623
剂型的发展历史及基本制剂知识 .....	638
剂型设计的理化途径 .....	661
胶体和胶体释药系统 .....	669
结晶对产品开发、加工和性能的重要性 .....	679
近红外光谱法用于片剂评价 .....	695
经皮给药中的超声促渗 .....	704
晶癖的改变和剂型的性能 .....	715
镜片护理产品 .....	726
均质和均质机 .....	735
颗粒的粒径分析 .....	742
可生物吸收聚合物 .....	754
口服固体制剂的薄膜包衣 .....	762
口服固体制剂的熔融工艺 .....	779
口服液体制剂 .....	783
蜡 .....	792
老年人用药剂量和剂型 .....	801
类脂在药剂学中的应用 .....	816
冷冻干燥 .....	827
冷冻干燥的工艺放大 .....	847
冷却工艺和冻结技术 .....	859
离子导入 .....	869
量热技术在药物研究与开发中的应用 .....	879



临床数据管理系统 .....	889
临床药动学和药效学 .....	896
<b>第二卷</b>	
临床用药品生产的 GMP 要求 .....	911
流化床制粒 .....	917
酶联免疫测定法及相关生物分析法 .....	923
美国国内的医疗保健体制 .....	936
美国以外的医疗保健体制 .....	944
免疫分析 .....	950
纳米粒给药系统 .....	961
凝胶和冻胶 .....	976
凝聚和相分离 .....	990
欧洲药品评价委员会 .....	1003
泡腾制剂 .....	1008
片剂处方 .....	1018
片剂的测定 .....	1027
片剂的生产 .....	1034
前药设计 .....	1049
潜溶剂和潜溶 .....	1054
确定失效日期 .....	1065
热分析在药物及药物制剂中的应用 .....	1071
热熔挤出技术 .....	1094
热原和细菌内毒素检查 .....	1108
溶出度和溶出度试验 .....	1118
乳剂和微乳 .....	1127
软胶囊 .....	1141
色谱分析技术: 薄层色谱法 .....	1150
色谱分析技术: 高效液相色谱法 .....	1162
色谱分析技术: 气相色谱法 .....	1171
伤口包扎敷料 .....	1218
设备清洁 .....	1229
生物技术和生物产品 .....	1238
生物体液分析 .....	1246
生物药剂学 .....	1255
湿热灭菌法 .....	1268
世界卫生组织 (WHO) 继续全球协调对医药产品的要求 .....	1277
手性光学分析法 .....	1280
兽用剂型 .....	1294
树状大分子 .....	1321
水凝胶 .....	1339
肽类和蛋白质类药物的口服吸收 .....	1356
肽类和蛋白质类药物的口腔黏膜吸收 .....	1369
替代药物 .....	1381
统计过程控制和工序能力 .....	1394
统计学方法 .....	1404
危险化学品和药品的处理 .....	1416
微球技术及其应用 .....	1420
微生物鉴别用 DNA 探针 .....	1430

无菌操作及其工艺验证 .....	1438
无纸文档系统 .....	1448
吸收促进剂 .....	1459
现代调剂学 .....	1465
先进的无菌工艺：吹瓶-灌装-封口 .....	1476
香料和矫味剂 .....	1481
项目管理 .....	1490
血液替代品：碳氟化合物途径 .....	1498
血液替代品：血红蛋白氧载体 .....	1513
X 射线粉末衍射法 .....	1534
压片的模具 .....	1546
压片工艺的机器原理、设计及故障处理 .....	1558
压片机的仪器化 .....	1571
牙科用品 .....	1590
研发密集的制药工业的经济特征 .....	1603
药代动力学：食物和禁食的影响 .....	1606
药典标准：美国药典和国家处方集 .....	1616
药典标准：日本药典 .....	1628
药典标准的协调 .....	1632
药典标准：欧洲药典 .....	1641
药品的包装材料：玻璃 .....	1646
药品的保存 .....	1658
药品的微生物控制 .....	1665
药品的质量保证 .....	1673
药品及药物系统中的表面活性剂 .....	1681
药品临床试验管理规范（GCP）概述 .....	1692
药品生产质量管理规范（GMP）概述 .....	1697
药品中的顶空氧分析 .....	1702
药品中的水分 .....	1710
药品主文件 .....	1723
药物不良反应 .....	1727
药物的安全性评价 .....	1736
药物的蛋白结合 .....	1752
药物的多态现象 .....	1763
药物的光解作用 .....	1771
药物的剂量确定：给药方案和剂量应答 .....	1777
药物的临床评价 .....	1786
药物的生物合成 .....	1794

### 第三卷

药物的生物利用度和生物等效性 .....	1821
药物的生物转化 .....	1829
药物的水解 .....	1839
药物的外包 .....	1844
药物的吸收 .....	1860
药物分析中的电化学检测 .....	1870
药物及其制剂的吸水性 .....	1887
药物开发的管理 .....	1900
药物开发中的遗传因素 .....	1910

药物开发中先导物优化的分子和细胞途径 .....	1918
药物滥用 .....	1927
药物设计的基本原理和应用 .....	1935
药物受体：在后基因时代的发现 .....	1942
药物输送：鼻腔给药 .....	1957
药物输送：肺部给药 .....	1963
药物输送：局部和透皮给药 .....	1969
药物输送：控制释放 .....	1981
药物输送：口服结肠定位给药 .....	2000
药物输送：口服途径 .....	2012
药物输送：口腔黏膜途径 .....	2030
药物输送：脉冲系统 .....	2039
药物输送：眼部途径 .....	2048
药物输送：阴道途径 .....	2056
药物输送：直肠给药 .....	2078
药物输送：注射给药途径 .....	2088
药物输送中的黏膜黏附水凝胶 .....	2098
药物输送中的液态结晶 .....	2111
药物相互作用 .....	2125
药物信息系统 .....	2131
药物在水性溶媒中的增溶 .....	2136
药物制剂用赋形剂 .....	2156
药物治疗方面的错误 .....	2166
药学单元操作的原理 .....	2176
药学数据的数学建模 .....	2188
药学中的单元过程操作 .....	2198
药用辅料测试：法规和临床前的观点 .....	2219
药用隔离装置 .....	2229
药用气雾剂的放射性标记及用于肺部沉积试验的 $\gamma$ 射线闪烁扫描成像技术 .....	2235
药用植物 .....	2243
药用着色剂 .....	2253
液雾剂 .....	2270
异构现象 .....	2290
疫苗及其他免疫产品 .....	2307
影响口服药物输送的生理学因素 .....	2324
硬胶囊 .....	2332
用于药物输送的单克隆抗体 .....	2343
用于制剂产品开发的专家系统 .....	2358
张力 .....	2375
蒸发与蒸发器 .....	2384
蒸汽灭菌法的生物验证 .....	2391
致癌性试验的历史、现状和前景 .....	2399
质量体系管理 .....	2410
直接压片 .....	2415
制剂工艺验证 .....	2424
制剂技术转化的考虑因素 .....	2434
制剂中的流变学 .....	2440
制丸技术 .....	2454
制药工业用弹性体 .....	2464

制药工业中的工艺化学 .....	2476
制药工业中的滚压制粒技术 .....	2486
制药技术中的二次电镜法 .....	2500
制药技术中的核磁共振波谱学 .....	2528
制药领域中的计算机 .....	2543
制药设备的电力系统 .....	2552
制药设备的腐蚀 .....	2557
制药设备用材料 .....	2568
制药用水 .....	2573
中试工厂的设计 .....	2581
中试工厂的运转 .....	2592
注射剂 .....	2604
注射剂无菌工艺的病毒灭活问题 .....	2613
专利：国际观点 .....	2627
专利：美国观点 .....	2636
自氧化和抗氧剂 .....	2645
最优化方法 .....	2658
作为药物载体的可生物降解聚合物 .....	2670
ZETA 电位 .....	2683
索引	



# 半固体制剂

Guru Betageri

Sunil Prabhu

Western University of Health Sciences, Pomona, California, U. S. A.

## 引言

半固体药物制剂是一种应用于皮肤或某些黏膜上,提供用药部位的局部作用,有时也提供全身作用的外用产品。通常半固体制剂处方复杂,并且有着较为复杂的结构<sup>[1]</sup>。它们通常由两相组成,即油相和水相,其中一相为连续相(外相),另一相为分散相(内相),药物活性成分通常溶解于一相或者两相之中,这样就形成了三相体系。半固体制剂的物理性质取决于多种因素,包括分散相颗粒的大小,两相之间的界面张力,活性成分在两相之间的分配系数,以及产品的流变性。这些因素共同决定了药物的释放特性,以及其他特性如黏度。尽管大多数的半固体制剂含有药物供治疗用,也有一些不含药半固体制剂而利用其物理性质作为保护剂和润滑剂。半固体制剂的设计基于它能在应用表面黏附,并在洗去或擦掉前保持一定的时间,该黏附力是由塑性流变行为引起的,可使半固体制剂维持形状,黏紧成一张膜直到有外力作用而发生变形或者流动。你可以想象这样一种行为,当你把一根手指插入半固体制剂时,当手指取出后留下的痕迹不会被填满<sup>[2,3]</sup>。半固体制剂具有的立体结构特性足以使得将该类固体的性质传递给未受影响的系统,但是系统在外力作用下容易被破坏而重新分布。从广义形式上,半固体制剂可以分为软膏剂、乳膏剂、糊剂和凝胶剂。

软膏剂大多数是将具有流动性的烃类化合物溶于具有更高熔点的固体烃类基质中而形成,通常软膏剂的基质有矿物油、凡士林、聚乙二醇等。乳膏剂是一种外观不透明的半固体制剂,它的黏度以及流变性取决于乳剂是水包油还是油包水以及在内相的固体性质。糊剂基本上就是在软膏中加入高浓度的不溶固体,比如将氧化锌、二氧化钛、淀粉以及高岭土等粉末高浓度地加入到亲脂性油脂载体中,形成类似于糊剂的产品。凝胶剂的液相局限于一个三维的聚合物基质中,该基质高度物理交联。大多数的半固体制剂应用于皮肤,用于局部治疗皮肤疾病,也有一部分应用于黏膜,比如直肠和颊组织黏膜、阴道黏膜、尿道黏膜、

外耳道膜、鼻黏膜和角膜。正常的皮肤渗透性限于局部作用,而黏膜给药更加容易渗透进入全身循环。总之,尽管不同的半固体制剂的结构及性质明显不同,但是共同的特性是结构都容易破坏、重新分布和形变。

## 软膏剂和乳膏剂

软膏剂通常利用特定的基质作为载体来输送药物,并赋予制剂缓和剂与润滑剂的性质。这些基质通常包含药物,但也有例外<sup>[4]</sup>。由于用药针对不同,舒适程度不同,应用范围不同,软膏剂各个产品的性质可能差异很大。通常软膏剂基质可以分为4类,即烃类基质、吸收性基质、水可除去基质以及水溶性基质。

### 1. 烃类基质

烃类基质又称亲油性基质,该基质本质上是无水的,只能加入少量的水,但很困难。这种类型的基质主要功能包括皮肤润滑作用,能在皮肤保留较长时间,能够阻止水分从皮肤表面挥发至大气之中,不易被洗脱。它们也是封闭敷料,通过减少皮肤水分挥发速率增加了皮肤的水合作用。同样,它们不容易干掉或者老化。烃类基质的半固体制剂组成通常是  $C_{16} \sim C_{30}$  直链或支链液态化合物嵌入到一个大的相对分子质量的固体烃类的结晶基质中。室温时,大的相对分子质量部分大量沉淀形成互锁结晶<sup>[5]</sup>。该结构的广义以及特异性决定了软膏剂的硬度。一般来说,烃类基质软膏剂在加热状态下液化,因为微晶熔融。当冷却时,慢慢冷却的流动性比快速冷却的流动性更好,因为慢慢冷却形成的结晶数目少而大,整体结构少。

通常,这些基质包括以下几种:

(1) 美国药典凡士林 从石油中提取出来的一种混合物,是一种油性物质,颜色从淡黄色到浅琥珀色,熔点在  $38 \sim 60^\circ\text{C}$  之间,可以单独使用或者和其他材料混合使用作为软膏基质,表1给出了各种颜色的凡士林的熔点范围以及黏度大小。

表1 各种凡士林的质量指标<sup>[1]</sup>

	熔点/ $^\circ\text{F}$ ( $^\circ\text{C}$ )	USP 或 ASTM 密度	210 $^\circ\text{F}$ 时的 Sabot 黏度	典型的凝结点/ $^\circ\text{F}$ ( $^\circ\text{C}$ )
白凡士林, USP	122/135 (50~57)	175/205	64/75	125 (51.6)
	118/130 (47~54)	210/240	57/70	120 (48.8)
	130/140 (54~60)	155/190	60/70	130 (54.4)

续表

	熔点/°F (°C)	USP 或 ASTM 密度	210 °F 时的 Sabolt 黏度	典型的凝固点/°F (°C)
黄凡士林, USP	118/130 (47~54)	210/240	57/70	118 (47.7)
	122/135 (50~57)	175/205	57/70	123 (50.5)

1) Witco Chemical Corporation.

(2) 美国药典白凡士林 凡士林部分脱色或者全部脱色, 其作用类似于凡士林, 但是在美观上更加容易被接受, 因为其颜色更浅。白凡士林对尿布湿疹 (小便不能透过和保护婴儿皮肤) 和皮肤干燥 (帮助皮肤维持一定的水分) 特别有效。例 1 说明加 95% 的白凡士林将使得软膏剂的基质更加致密。

例 1 白色软膏, USP

白凡士林	95% (w/w)
白蜡	5% (w/w)

注: 操作步骤: 融化白蜡后加入白凡士林, 继续加热至形成熔融物。搅拌至凝固。温和加热避免炭化 (最好用蒸气加热), 也应该避免剧烈搅拌混入空气。

(3) 美国药典黄软膏 从蜜蜂窝提取出来的纯化的蜂蜡, 处方中含有 95% 的凡士林和 5% 的蜂蜡。

(4) 液态石蜡 从石油中提取出来的一些液态烃类混合物, 作为研磨剂, 在油性基质软膏剂中润湿和容纳固体材料 (如水杨酸和氧化锌)。在美国药典/美国国家处方集中列出了两种液态石蜡, 美国药典液态石蜡又称为重质液态石蜡, 相对密度在 0.845~0.905, 它的黏度在 40°C 度时不到 34.5cSt (1cSt = 1mm<sup>2</sup>/s); 美国国家处方集中的轻质液态石蜡, 相对密度在 0.818~0.880, 黏度不超过 33.5cSt。表 2 列出了部分液态石蜡商品。

表 2 部分液态石蜡质量指标<sup>1)</sup>

种类	40°C 时动力黏度	60°C 时相对密度
液态石蜡, USP	65.8/71.0	0.870/0.887
	72.0/79.5	0.864/0.878
	60.0/63.3	0.863/0.883
	38.4/41.5	0.859/0.882
	34.9/37.3	0.858/0.882
轻质液态石蜡, NF	28.1/30.3	0.856/0.882
	24.2/26.3	0.854/0.873
	17.7/20.2	0.842/0.870
	14.2/17.0	0.845/0.860
	7.6/8.7	0.831/0.842

1) Penzoi Products Company.

增加液态石蜡和凡士林混合物中矿物油的量, 能够得到到所需的不同密度。例如, 10% (w/w) 的矿物油和 90% (w/w) 的白凡士林的混合基质能使软膏涂布更好, 用于烧

伤处及其他痛区十分理想。在例 2 中, 将凡士林和石蜡油熔融, 冷却形成一个柔软的基质, 随着混合物中液态石蜡量的增加, 可以获得一个凝胶状的更为黏稠的制剂 (例 3)。烃类载体有几个优点, 如稳定性和润滑性; 但是, 它们有一个很大的缺点——油腻性, 会污染衣服而且很难去掉<sup>[6]</sup>。

例 2 软凡士林基质

白凡士林, USP	90% (w/w)
液态石蜡, NF	10% (w/w)

注: 操作步骤: 将白凡士林和液态石蜡一起熔融, 然后冷却。

例 3 胶状凡士林基质

白凡士林, USP	75% (w/w)
液态石蜡, NF	25% (w/w)

注: 操作步骤: 将白凡士林和液态石蜡一起溶解, 然后冷却。

## 2. 眼用软膏

眼用软膏不同于一般的软膏的地方是它必须是无菌的。虽然 USP 没有在意用药物专论中详细说明任何特定的基质, 但它要求其所用成分必须在严格的无菌条件下灭菌, 并且在最终包装时需再次灭菌<sup>[7]</sup>。为眼用制剂选择一个基质时, 必须满足几点质量要求, 如能使药物完全分散到眼睛的泪液、对眼睛无刺激性等, 必须有接近人体体温的融化温度, 以减少引起患者不适及便于释放药物。为了避免伤害眼睛的危险, 软膏绝对不能含大颗粒和金属颗粒。含药及不含药 (润滑) 的眼膏一般用液态石蜡和白凡士林的混合物作为眼膏基质。通常药物以溶液或细粉形式加到基质中, 然后充分研磨使制剂均匀光滑。眼膏必须通过 USP 的无菌检验和眼膏的金属颗粒检验。实现眼膏的无菌需要特殊的无菌技术和工艺。每一个药物连同其他组分均需分别灭菌, 无菌称量, 混合以制得符合无菌要求的成品<sup>[8]</sup>。这样操作的原因是终产品灭菌困难, 如眼膏基质缺乏蒸气的渗透性和干性高温导致的组分不稳定性。抑菌防腐剂是必需的, 如尼泊金甲酯 (0.05%)、尼泊金丙酯 (0.01%) 及联合使用乙酸苯汞 (0.0008%)、三氯叔丁醇 (0.5%) 和苯扎氯铵 (0.008%) 等。

## 3. 吸收性基质

吸收性基质包括亲水性、无水材料 (W/O 乳剂) 或者含水基质 (W/O 的具有吸收更多水分功能的乳剂)。加入羊毛脂、羊毛脂提取物、胆固醇、羊毛固醇或者乙酰化固醇使烃类基质具有亲水性。这些亲水性的混合物被称为吸收性基质; 但实际上, “吸收” 是一个误称。虽然这些基质

的确最终能吸收水溶液变成 W/O 乳剂,但是它们并不是通过接触,而是经过充分搅拌后吸收水分。它们只是常规的含有足量的 W/O 乳化剂的软膏剂。当水性介质渗入到基质时,也许含有药物溶液,即形成了一种 W/O 乳剂。因此这些基质可分为:①允许水溶液的渗入而形成 W/O 乳剂(如亲水性凡士林);②已经是 W/O 乳剂(乳剂基质)并且允许少量额外的水溶液渗入的乳剂(如冷膏)。即使这些介质不像油性基质一样提供封闭,但可用作软化剂。它们在制剂方面也可用来包含药物水溶液(如磺胺酰胺钠溶液)到油脂性基质。一个典型的无水吸收性基质就是 USP 亲水性凡士林(例 4)。这里,胆固醇赋予 W/O 乳剂的属性,十八醇和白蜡提高硬度和热稳定性。各种不同的添加剂包括胆固醇、羊毛脂(包含胆固醇、胆固醇酯和其他乳化剂)、半合成的羊毛脂衍生物,和各种离子、非离子表面活性剂单独使用或组合使用将水乳化入这些体系。羊毛脂可能是在无水基质中乳化水最著名的物质。USP 无水羊毛脂能吸收超过 30% 质量的水来形成乳剂。水的吸收容量通过加入胆固醇能提高到 50%。在吸收性基质里,羊毛脂是最古老的也是最有名的,但是由于其黏性和黏稠的性质以及过敏性反应的报告,羊毛脂的应用是相当有限的。技术上的突破成功地使 W/O 乳剂开发了数种乳化剂。使用在特定的处方中,乳化剂如聚甘油酸酯能形成 W/O 的乳剂(例 5)。吸收性基质在使用时具有优秀的软化性并且提供良好的封闭性。但是,它们使用时仍然很油腻并且很难除去。当水的存在引起如抗生素这样药物的稳定性问题时,可以使用无水型的吸收性基质。商品化的吸收性基质包括 Beiersdorf 公司的 Aquaphor、Fougera 公司的 Polysorb。吸收性基质,不管是含水的还是无水的,很少用作上市药品的基质,因为 W/O 乳剂和常规的 O/W 体系相比更难控制,并且由于油腻患者比较难以接受。

例 4 吸水性软石蜡, USP (无水的吸收基质)

白凡士林	86.0% (w/w)	硬脂醇	3% (w/w)
胆固醇	3% (w/w)	白蜡	8% (w/w)

注:操作方法:把硬脂醇和白蜡放在蒸发皿里一起熔化,然后添加胆固醇搅拌至完全溶解,添加白蜡混合,把样品从蒸发皿里取出,搅拌至混合物凝结。

例 5 水在油基乳剂的形成

液状石蜡	40% (w/w)	山梨醇单硬脂酸盐	3.5% (w/w)
白蜡	6% (w/w)	聚山梨酯 60	2.5% (w/w)
聚甘油酸-5-	8% (w/w)	丙二醇	4% (w/w)
三油酸酯		水	33% (w/w)
异丙基棕榈酸酯	3% (w/w)	防腐剂适量	

人们合成了一种新的具有烷基侧链和多羟基的聚甲氧基硅氧烷链的 W/O 乳化剂<sup>[9]</sup>,这些乳化剂称为有机硅材料聚合物,可以制成高含水量的 W/O 乳剂。甲氧基硅氧烷链

同时拥有亲水和亲脂的性质,烷基侧链提供必要的亲脂的性质,多元醇基团提供乳化剂的亲水特征。其他的 W/O 乳化剂例子包括十六烷基聚二甲基硅氧烷<sup>[10]</sup>、聚乙二醇-20-甘油酯<sup>[11]</sup>,和一系列的羊脂酸的癸酰基硬脂酸酯<sup>[12]</sup>。

#### 4. 水可除去基质 (可水洗基质)

这是最常用的可以从皮肤或者衣服上用水冲洗掉的 O/W 乳剂基质,可以包含水溶性或者水不溶性成分。从治疗的角度,它们能吸收皮肤疾病的渗出物。在水分挥发后,可水洗基质在用药部位形成半渗透膜,因此,基质包括三相:油相、乳化剂和水相。油相,通常也叫内相,通常由凡士林和(或)液态凡士林组成,其他成分如十六醇、十八醇,也可以加入组成油相。一种典型的可水洗乳剂基质,是亲水性软膏(USP 收载,例 6)。十八醇作为辅助乳化剂使用,凡士林在整个基质中起着保持水分的作用。水相包含防腐剂、保湿剂和乳化剂。加入保湿剂是减少成品的水分丧失,保证产品的可接收性。常用的保湿剂有甘油、丙二醇和聚乙二醇等。水相也包括乳剂系统的水溶性组分,以及附加的稳定剂、抗氧剂和缓冲剂等,这些对于稳定性、pH 控制及其他与水性体系相关的考虑是必不可少的。另外一个水包油型乳剂的基质是“消失的乳液”(例 7)。之所以这样称呼,是因为将此乳膏在使用摩擦后很快进入皮肤,几乎不会在皮肤表面留下明显的痕迹。乳化剂的加入对于乳剂制备是很重要的,乳化剂在加入之前必须符合以下标准:

- 必须是降低界面张力的表面活性剂;
- 通过迅速吸收于分散液滴周围而防止其合并;
- 使液滴带上适量的同种电荷,而产生排斥作用防止其合并;
- 能够提高黏度而保持半固体系统;
- 能在较低浓度下发挥作用,乳化剂按其种类的不同可以分为三类:阴离子、阳离子及非离子型。

例 6 亲水性软膏, USP

硬脂醇	25% (w/w)	十二烷基硫酸钠	1% (w/w)
白凡士林	25% (w/w)	丙二醇	12% (w/w)
尼泊金甲酯	0.025% (w/w)	水	37% (w/w)
尼泊金丙酯	0.015% (w/w)		

注:制法:将十八醇和凡士林水浴加热至 75℃ 溶解,将其他组分加入到水中使溶解并加热至 75℃,两相混合,搅拌至凝结。

例 7 消失的乳液 (霜剂基质 O/W)

油相	
硬脂酸	13.0% (w/v)
硬脂醇	1% (w/v)
十六醇	1% (w/v)
水相	
甘油	10% (w/v)
尼泊金甲酯	0.1% (w/v)

续表

尼泊金丙酯	0.05% (w/v)
氢氧化钾	0.9% (w/v)
水	加至 100% (w/v)

注：制法：将油相和水相分别加热至大约 65℃，将油相缓慢加入到水相，搅拌形成乳液，冷却至大约 50℃，搅拌使均匀，继续搅拌冷却至凝固。

#### 4.1 阴离子型乳化剂

这类乳化剂的活性部分是阴离子基团，通常这类乳化剂对酸更加稳定，允许的 pH 范围是 4.5~6.5。常见的有十二烷基硫酸钠、三乙醇胺硬脂酸等。三乙醇胺硬脂酸在目前是最普遍应用的乳剂和洗剂型乳化剂。该乳化剂为现场制备，通常先将硬脂酸溶解于热的油相，而将三乙醇胺溶解于热的水相。三乙醇胺的用量控制着成品的 pH。

#### 4.2 阳离子型乳化剂

阳离子型乳化剂具有较高的表面活性，但较少作为乳化剂使用。分子中阳离子部分通常是脂肪酸衍生物的季铵盐，如氯化二甲基二乙基胺。这类乳化剂对皮肤和眼睛有刺激作用，与许多物质在很大程度上不相容，如阴离子物质。

#### 4.3 非离子型乳化剂

这类乳化剂在乳液中表现出了很强的 pH 耐受性和电荷相容性，因为这类乳化剂本身在溶液中不电离。虽然非离子型乳化剂中有些更加亲水，有一些更亲油，但是典型的乳化剂系统都为亲水和亲油组分的混合物，这样就得到了不同的亲水亲油平衡值 (HLB)。如同 Griffin 建议的那样<sup>[13]</sup>，要寻找一种乳化剂使其发挥最佳效用，必须根据它应起的作用在一定的 HLB 值范围内进行寻找，例如湿润剂、消泡剂、去污剂等。尽管 HLB 值有时可高达 40 左右，但常用的范围却是 1~20，较高极性和较高亲水性的物质 HLB 值高于较弱极性和较强亲油性的物质。通常 HLB 值 3~6 的乳化剂亲油性强，可作为 W/O 型乳液的乳化剂使用，HLB 值 8~18 的乳化剂因其亲水性强，可作为 O/W 型乳液的乳化剂使用。有了这样的使用范围，就可以让不同的乳化剂发挥合适的作用，表 3 说明了 HLB 值与不同用途的乳化剂之间的关系。含有非离子型乳化剂的乳液可依如下方法制得：将亲油性和亲水性组分分别溶解或分散于油相和水相，将两相分别加热，混合制成乳剂。以非离子型乳化剂制备的乳液通常刺激性小，较为稳定，并有很好的相容性。例 8 和例 9 列举用这类乳剂制备霜剂的处方。

化妆品及香水联合会发布的《国际化妆品成分大辞典》<sup>[14]</sup>提供了较为完整的乳剂成分的目录，特别是油相成分。超过 6000 种成分收录其中（加上商品名、常用名交叉重复的情况，超过 25 000 种）。这其中包括乳化剂、辅助乳化剂、表面活性剂、稳定剂等。另一本参考书是《McCutcheons 去污剂与乳化剂》<sup>[15]</sup>，其中也收录了几千种乳

剂和表面活性剂。这些目录为制药工业和化妆品工业的处方工艺设计提供了重要的信息资源。在制备半固体乳液中常用的油相和表面活性剂可参见表 4 和表 5。

表 3 乳化剂的 HLB 值和用途

用途	指定的 HLB 值	用途	指定的 HLB 值
消泡剂	1~3	乳化剂 (O/W)	8~18
乳化剂 (W/O)	3~6	增溶剂	15~20
湿润剂	7~9	去污剂	13~15

例 8 O/W 乳液处方 (HLB 13)

组分 A	
硬脂酸	10% (w/w)
矿物油	8% (w/w)
白凡士林	6% (w/w)
山梨醇单硬脂酸酯	2% (w/w)
组分 B	
聚氧乙烯山梨醇单硬脂酸酯	1% (w/w)
水	73% (w/w)
防腐剂适量	

注：制法：将组分 A 加热至 70℃ 使完全溶解。在 70℃ 条件下将组分 B 加入搅拌，冷却至室温即得。

例 9 W/O 乳液处方 (HLB 12)

组分 A	
矿物油	50% (w/w)
白蜡	15% (w/w)
山梨醇单硬脂酸酯	2% (w/w)
组分 B (w/w)	
聚氧乙烯山梨醇单硬脂酸酯	3% (w/w)
水	30% (w/w)

注：制法同例 8。

表 4 乳液油相成分

种类	成分	物态
烃类	矿物油	液体
烃类	凡士林	半固体
烃类	聚乙烯聚合物	固体
烃类	合成蜡	固体
酯类	植物油	液体
酯类	羊毛脂	液体
酯类	合成类 (硬脂酸丁酯等)	液体或固体
醇类	高级醇	液体或固体
脂肪酸	高级脂肪酸	液体或固体
醚类	聚氧乙烯	液体或固体
	聚氧丙烯	液体或固体
硅酮	聚合物	液体或固体
天然产物	植物或动物蜡	固体



表5 半固体乳剂的乳化剂

阴离子型	阳离子型	非离子型
烷基硫酸酯	季铵盐类	聚氧乙烯芳基醚
肥皂类	烧氧基胺	聚氧丙烯芳基醚
十二烷基苯磺酸		聚氧乙烯脂肪醇酯
乳酸酯		聚山梨酯
磺基丁二酸酯		聚氧乙烯聚氧丙烯共聚物
甘油单硫酸酯		
磷酸酯		山梨醇脂肪醇酯
硅酮		甘油脂肪醇酯
肌氨酸		
Taurates		

## 5. 微乳

微乳是一种透明的、液态的、热力学稳定的油水系统，其稳定性主要靠表面活性剂和辅助表面活性剂，如低级醇、胺或其他弱两亲性物质实现<sup>[16,17]</sup>。微乳的一个有趣的特征是其分散相液滴的平均直径在100~1000Å范围内，而一般动力学稳定的乳剂其分散相直径都在5000Å。这种微小的分散相直径可让微乳作为水难溶性药物的载体发挥作用。制备微乳的方法如下：将表面活性剂、油、水混合制成乳液，然后定量加入第四种物质——辅助表面活性剂，混合至乳液变澄清<sup>[18]</sup>。如果在W/O型乳剂中加入过量油相，体系将变浑浊，如果再加入过量辅助表面活性剂，体系将变得澄清。参见例10，该处方可制成有良好稳定性的澄清透明的振摇凝胶。微乳在肉眼检视下澄清透明是因为其胶质体系的分散相粒径小于可见光波长的1/4，这使得它不会对可见光造成散射，因而呈现出澄清的体系<sup>[19,20]</sup>。微乳一经制成就必须分装，在加热状态下它才能保持良好的液体状态。放冷后微乳无法重新加热恢复到澄清状态，因为分散相油滴的合并会使其半径增大而反射可见光。

例10 微乳液

矿物油，NF	16% (w/w)
二硬脂酸蔗糖酯	5% (w/w)
硬脂酸蔗糖酯	5% (w/w)
二乙胺油酸酯-10 磷酸酯	2% (w/w)
二乙胺油酸酯-3 磷酸酯	5% (w/w)
1, 3-乙基己烷二醇	2.5% (w/w)
丙二醇	5% (w/w)
水	59.5% (w/w)

## 6. 水溶性基质

这类基质仅包括水溶性成分，水溶性基质也可认为是

不亲油的，因为它们缺乏亲油材料。它们很难容纳水溶液，因为加入过量的水会使其急剧软化。这类基质通常用于非亲水性药物或固体药物。聚乙二醇(PEG)是水溶性基质中主要的成分，PEG类可根据其与相对分子质量有关的数字进行分类，其物态可从液态到蜡状固体。PEG后数字较小呈现液态，随着数字的升高逐渐过渡到蜡状固体。例如，PEG 400是液体，而PEG 4000就是蜡状固体。PEG是氧乙烯和水的聚合物，化学式可表示为 $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$ ，它们是非挥发性的、水溶性的或可与水混合的化学惰性成分。可作为载体的PEG类包括PEG 1500、PEG 1600、PEG 4000和PEG 6000，从柔软蜡状固体到坚硬的固体。在软膏中最好混合使用高相对分子质量和低相对分子质量的聚乙二醇(例11)。聚乙二醇也是很好的栓剂基质，不同的聚乙二醇混合使用可制得具有不同稠度和特性的栓剂基质。例如，PEG 1000和PEG 400混合后，熔点更高。但与液体聚乙二醇混合，熔点降低。一些药物降低PEG熔点，因此选择基质时每一个成分都要仔细考虑。PEG栓剂的优点是既能防止在体温下溶解，但又能在体液中慢慢地溶解。因此，它既可以在高于体温的温度下制备，也可以在不需冷冻的状态下储存，但不会从插入口泄漏，因为它有较高的熔融温度。

例11 PEG软膏，NF

PEG 3350	40% (w/w)
PEG 400	60% (w/w)

注：制备方法为水浴加热至65℃，搅拌下冷却直至冷凝。

## 糊剂

糊剂是在软膏中混入高比例的不溶性固体颗粒，该颗粒有时高达50%甚至更高<sup>[2]</sup>。高比例的不溶性颗粒提高了系统的硬度，原因是分散颗粒间的直接相互作用以及颗粒表面从载体中吸附液烃。因为硬度高，在敷用后维持原位并能有效地吸收严重渗出物。糊剂不太适用于多毛的部位。以不溶性成分作为分散相颗粒的有淀粉、氧化锌、碳酸钙等。糊剂提供了良好的保护屏障，理由是除了形成连续的膜之外，在那些有害的化学物质到达皮肤表面之前，糊剂将其吸收或者使其无效，后者归功于处方中的不溶性固体颗粒。举个例子，治疗尿布湿疹时，涂在小孩臀部的糊剂用来吸收由于细菌对尿的作用而产生的刺激物。糊剂还能在损伤处提供一层保护膜，采用适当的敷料，能预防患者由于搔抓而使皮肤脱落。糊剂还能和软膏一样有润肤作用。此外，不透水的膜是不透明的，可以作为防晒乳。比起软膏剂来，糊剂油性小些，因为液烃被不溶性固体颗粒所吸收。临床上通常归功于糊剂的一个显著的功能是能像粉末或者其他吸收性成分一样吸收渗出液<sup>[21]</sup>。现今使用的少数几种糊剂之一是氧化锌糊剂(例12)，制备时先将其磨细，再将25%的氧化锌和25%的淀粉与白凡士林混合。该产品较硬，比起氧化锌软膏能更好地保护皮肤和吸收分

泌物。

例 12 氧化锌糊剂, USP

氧化锌	25% (w/w)
淀粉	25% (w/w)
炉甘石	5% (w/w)
白凡士林	加至 100% (w/w)

注: 制备方法: 将氧化锌和淀粉加次加至炉甘石中, 研磨使均匀混于凡士林。不应用矿物油作为研磨剂, 因为会软化产品。必要时将部分凡士林熔融作为研磨剂。

## 凝胶剂

凝胶剂是一种由大分子或者小分子物质分散于水溶液, 通过加入胶凝剂形成的类似于果冻的半固体制剂<sup>[22]</sup>。凝胶是固态和液态的中间态。通过分子间交联或聚集固相形成三维网状结构, 将连续相中液体固定<sup>[23]</sup>。凝胶可以分为两种主要的类型: 水凝胶-水作为连续相; 有机凝胶-有机溶剂作为液态连续相介质。凝胶同样也可以以其在三维固态网状结构中键的性质来进行分类: 化学凝胶通过强共价键将网络连接形成; 物理凝胶则是通过氢键、静电以及范德华力相互作用来维持其凝胶网状结构<sup>[24]</sup>。胶凝剂通常为合成大分子 (如卡波姆 934)、纤维素衍生物 (如羧甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素) 以及天然胶质 (如黄芪胶)。卡波姆是一种特殊的高相对分子质量水溶性聚合物, 主要由丙烯酸和 (或) 蔗糖或季戊四醇以烷基醚交联而成, NF 中收录了下列六种聚合物的专论: 卡波姆 910、934、934P、940、941 以及 1342。它们作为胶凝剂通常在水中的含量为 0.5%~2.0%。卡波姆 940 能产生最大的黏度, 0.5% 水溶液的黏度为 40 000cP ( $1\text{cP}=10^{-3}\text{Pa}\cdot\text{s}$ ) 和 60 000cP。根据它们的不同组成, 会得到不同的黏度。凝胶可以分为两相和单相体系。两相凝胶体系是由絮状独立颗粒组成, 而不是大分子, 因此我们通常将两相体系称为乳浆剂。牛奶乳浆剂 (或称氧化镁乳浆剂) 是该体系的一个例子, 它是由氢氧化镁凝胶沉淀形成的。这种凝胶结构在两相系统中并不总是稳定的, 有可能因静置而增稠形成触变胶, 因此在使用之前必须振荡使胶体溶解并利于倾灌。而单相系统则是其凝胶中的大分子均匀地分散在液体中, 液体及其中分散的大分子之间也没有明显的分界线。黄芪胶和羧甲基纤维素就是这类凝胶的代表。一个典型的凝胶处方通常含凝胶剂、水、药物成分、助溶剂如酒精或丙二醇, 抑菌剂如对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯或葡萄糖酸洗必泰, 稳定剂如 EDTA。药用凝胶应该制备成适合多种给药途径, 包括皮肤外用、眼、鼻咽部、阴道以及直肠。例 13 和例 14 列出了一些简单的凝胶处方, 例 15 则给出了一种硬的刚性凝胶处方。

例 13 卡波姆 941 凝胶

卡波姆 941	0.5% (w/w)
甘油	10% (w/w)
三乙醇胺	0.5% (w/w)
水	89% (w/w)
防腐剂	适量

注: 制备方法: 将水、甘油和防腐剂混合后, 在高速搅拌下向混合物表面喷洒卡波姆。然后低速搅拌同时加入三乙醇胺直至透明并黏稠的凝胶形成。

例 14 卡波姆 934 含醇凝胶

卡波姆 934 树脂	3% (w/w)
甘油	10% (w/w)
乙醇	40% (w/w)
2-乙基己胺	2.5% (w/w)
水	44.5% (w/w)

注: 制备方法: 将卡波姆分散到甘油和水中, 并加入 2-乙基己胺的乙醇溶液, 搅拌直至形成透明的凝胶。

例 15 可溶性矿物油凝胶

PEG 3 油酸酯磷酸酯	6.8% (w/w)
PEG 3 油酸酯	4% (w/w)
PEG 5 油酸酯	2.7% (w/w)
矿物油 220SUS	13.6% (w/w)
2-乙基-1, 3-己二醇	13.4% (w/w)
丙二醇	1.4% (w/w)
水	68.1% (w/w)

注: 制备方法: 将除水外的所有组分加热至 75℃, 在其到达 75℃后将水加入到油中混合并形成软凝胶, 不停搅拌并冷却至约 35℃。

## 制备方法

### 1. 软膏剂

软膏剂的制备主要有两种方法: 掺入和融合。这两种方法均可以用于小规模 (实验室) 和大规模 (工业) 制备半固体剂型。

#### 1.1 掺入 (实验规模)

小规模时, 例如在药房时, 少量软膏的制备通常用到研钵和杵、一个乳膏台面 (瓷或玻璃的) 以及调药刀。研钵的药物加到赋形剂中, 将组分混合或研磨, 即形成软膏。有时候, 用不吸附的羊皮纸覆盖在工作台表面, 用完后扔掉, 这可以节省因清洁软膏台面而消耗的时间。

当我们用刮刀混合固体时, 通常将软膏基质放置在台面的一侧, 而药物粉末放置在另一侧。将粉末和基质一部分一部分地混合, 形成均匀的物料, 重复这一步骤直到剩

余的基质和粉末全部混合。可以用金属或硬塑料制成的具有宽刀口的调药刀来完成这个任务。混合化合物（如苯酚）有时会和铁起反应，此时我们用硬塑料调药刀进行操作。

通常软膏中粉末的粒径要尽可能小，以避免制剂的粗糙或有砂砾。减少粒径的方法通常采用研钵和杵的研磨。这样，细粉和少量乳膏基质一起被彻底研磨形成浓缩物。有时，研磨剂如矿物油（用于油性基质）和甘油（用于水基质）同样可以用于形成光滑的分散体。研磨剂必须在物理及化学方面与药物及基质相容。浓缩物用剩余的基质以几何倍速率稀释直至形成均一的混合物。研磨这一过程通常采用研钵和杵来减小粒径并使粉末分布于浓缩物中。研磨后，分散物可以转移到软膏平板上或加入剩余乳膏基质并用研钵和杵继续混合。如果药物溶于酒精和水等溶剂，那么将粉末首先溶于选择好的溶剂中再用研钵和杵将其和剩余的基质混匀。刮铲会很困难，因为水或酒精溶解的成分可以自由流动。

在将液态或溶液态的药物混入软膏基质时，必须仔细选择合适的软膏基质，以确保其有足够的容量能容纳一定体积的液态药物。在将液体混入憎水性软膏基质如油性基质时，应首先将其与少量的亲水性软膏基质混合，然后再加入到憎水基质中。液体量不要超过基质的容纳能力，否则制剂将会变得过于柔软或者变为半流体状态。

## 1.2 掺入（工业规模）

机械搅拌器用于大量制备乳膏，尤其是在制药工业中。不锈钢搅拌釜用于生产烃类的和水溶性基质的软膏（图1）。不锈钢釜使用夹套加热和冷却，并装备有搅拌装置。釜的设计符合油和蜡状物的熔化和混合，并方便倾空。取决于要制备的处方，搅拌器通常为螺旋桨或锚式设计。如果处方主要是液体，螺旋桨式搅拌器最适合；如果处方中有固体蜡、羊毛脂、凡士林等类似成分，装备可移动的带搅拌器的釜是必要的（图1）。

行星式搅拌器（图2）也可用于大规模制备软膏。此时将细粉料慢慢加入或筛入先前置于旋转混合器中的软膏基质中。混合均匀后，用轧制机进一步处理，以确保完全分散和减小制备过程中形成的结块物的大小。轧制机强迫软膏体通过不锈钢滚筒，以得到成分均匀、质地细腻的软膏。

## 2. 熔化工艺

熔化过程是通过加热把所有膏体组分或是一部分组分熔化，熔化后混合物才在连续的搅拌下冷却至凝结。不能进行加热熔化的其他组分在凝结混合物搅拌冷却过程中加入。不耐热的物料在加入制剂时，应当仔细地观察混合物的温度，以保证其足够低而不至于引起该组分的分解或挥发。

也可以将研细的药物与一部分基质研磨以形成浓缩物，然后将浓缩物加入或是分散在剩下的基质中，使用陶瓷盘、玻璃烧杯等搅拌设备（少量制备时），或是通过一个蒸气夹套的容器（大量制备时），然后才能像前文所述的，进行冷



图1 不锈钢带搅拌器的夹套釜

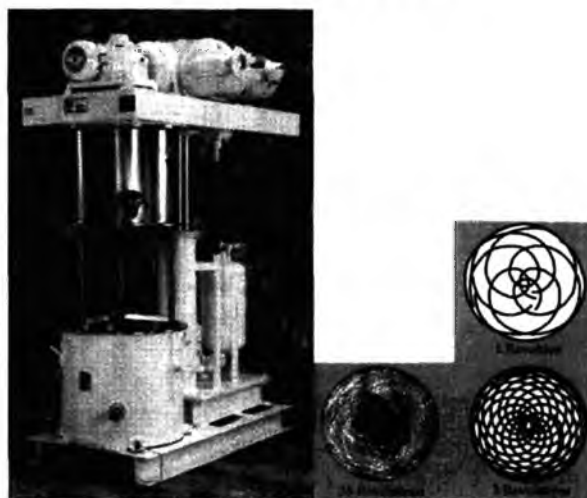


图2 双行星式搅拌机，显示在不同搅拌速度下的混合模式

却和凝结。一旦凝结后，将混合物用刮刀或研钵和杵研磨（少量制备），或通过软膏轧制机的搅拌（大量制备）以保证混合均匀和质地光洁。可以熔化的一些常见组分的例子包括蜂蜡、石蜡、硬脂醇、高相对分子质量的聚乙二醇。各种组分在熔化过程中的加入顺序在软膏的制备过程中也起到了重要作用。总而言之，将所有组分混合在一起的方法之一是选择各组分中最高熔点，并且用最少的热量熔化

它。随后,所有其他的组分可以在恒速搅拌和熔融物冷却的过程中加入,直至混合凝结;另一种方法是最低熔点的组分可以最先加,当温度升高后,其他的组分再加入使混合物全部熔融,然后再冷却和凝结。

### 3. 乳剂制品

乳剂是通过两相加热制备而成的体系,首先,第一相的油相成分置于一个夹套容器中,加热到  $70\sim 75^{\circ}\text{C}$ ,使其熔化或者液化,使所有的成分形成一个均一的状态,在另外一个容器中,第二相即水相成分加热到稍高于  $75^{\circ}\text{C}$ ,接着在恒速搅拌下将水相慢慢加入到油相之中,持续搅拌,使混合相慢慢冷却,直到乳剂形成。药物活性成分可以在冷却阶段加入,通常这些活性成分在加入之前已经磨细成高度分散的状态。有时,可能乳剂的水相更多,需要一个更大的釜,以及更复杂的搅拌器。由于水相釜的大小是油相的两倍,这个尺寸大小要能容纳最终的乳剂的体积。两相可以共同加热到  $70\sim 80^{\circ}\text{C}$ 。为了方便和更加有效,油相釜应该直接安装在水相釜之上,这样能将油相加入到下面的乳化单元中。油相以一股较小的细流加入到水相时才能有一个较快速度的分散和乳化,这只有在搅拌器大小合适时才能实现。对大约 200gal [gal 为非法定单位, 1gal (US) = 3.785 43L] 的容量来说,单个高湍流度的搅拌器大部分情况下可适用。图 3 显示的是两种高湍流度的乳化器,有三个顶端入口的同轴搅拌器,包括一个锚装搅拌器和一个能自我调节的聚四氟乙烯刮削器,能使制剂得到充分混合。对于 1000gal 这样大的批量来说,需要一个大型的

多重搅拌机器(图 4),包括一个混合乳化器(用于高度剪切),一个高速分散器(将固体分散成黏稠的液体),还有一个锚式搅拌器,用于在低剪切力时,提供最大量的混合运动。另外一种用于大批量搅拌的设计是将双运动、反向旋转搅拌及均质运动组合使用,以适应多种混合用途(图 5)。两相混合后,接下来的冷却需要缓慢减速,使乳剂在液体状态下充分混合。冷却应该以一个适当的速度进行,与乳剂的形成和刮锅壁的相协调,要防止乳膏的结块,特别是半固体含有大量的高熔点物料时。当制备时要将药物加入,要注意将油溶性药物溶解在油相中,水溶性药物加到水相中。所有的乳剂对细菌污染都是敏感的,因此在乳剂还是热的时候必须加入防腐剂,以形成溶液。为了提高油相的稳定性,当乳剂形成后,可以用胶体磨作进一步的分散。如图 6 所示,胶体磨可以是一个可以活动的单元,将其放入釜底操作,此时相混合还在进行。该操作为绕着定子高速转动剪切,间隔为数千分之一英寸。胶体磨也可以置于釜外,乳剂用泵通过其进入灌装设备或者储罐(图 7)。有时为了减小油相滴的大小,可使用匀浆器,通过在高压下,施加一个拖尾作用,将乳剂穿过一个小孔。匀浆器位于乳化釜和灌装线或者储罐之间。匀浆器相对于胶体磨的优点是不会在乳剂中混进空气。然而匀浆机的产量是胶体磨的  $1/10\sim 1/100$ 。当乳膏从一个容器泵入另外一个容器时,可以安装在线胶体磨。乳化并不是在釜内或者其他容器内形成,而是通过定量泵将各个相以适当的比例输入管线中,通过在线胶体磨中途完成乳化(图 8)。

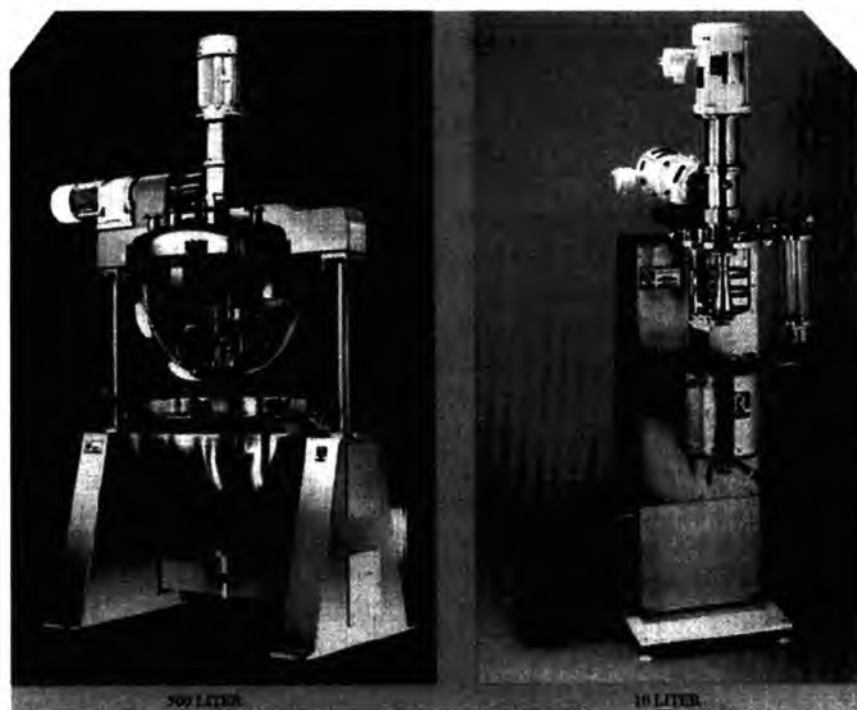


图 3 不同容量的高湍流度混合机

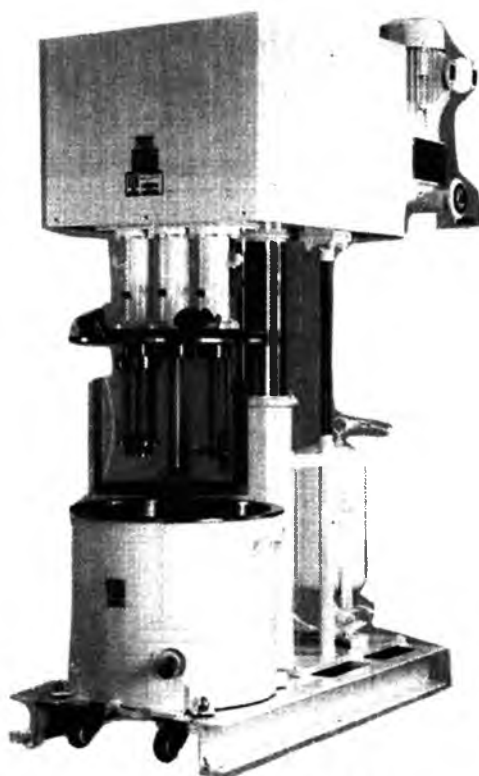


图4 大规模的多重搅拌混合机

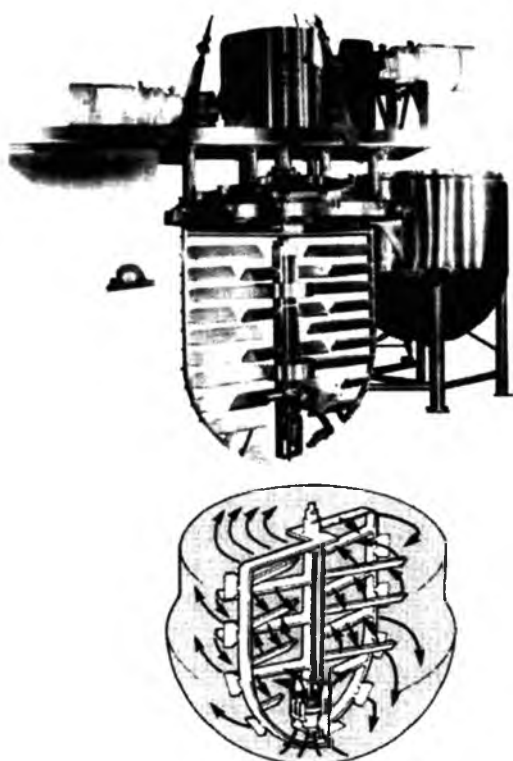


图5 具有反向旋转混合杆的大规模生产设备  
(Tri-mix turboshear)



图6 便携式混合器



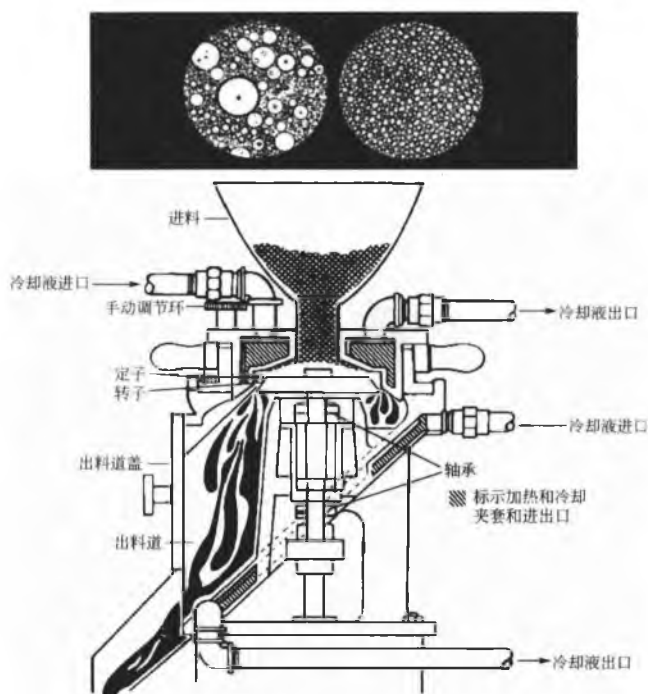


图7 胶体磨示意图及研磨前后的显微照片



图8 超清洁的在线混合机

另外一种在线乳化方法是超声工艺, 利用超声波发生器和 Pohlman 声波的原理<sup>[25]</sup>。该工艺采用高强度的混合设备, 能机械产生超声促进乳化和分散。加工的液体通过一个特殊的小孔泵入, 形成一股平的高压的液流, 喷射在固定在管中的扁平叶片上, 使其以超声频率进行震动。成腔作用在液体上, 产生了强烈的局部压力变化, 瞬间使那些不混溶的液体和不溶固体分散。油包水乳剂的制备装置与水包油的一样, 只是设备中相进行了反转。

#### 4. 其他制剂

与软膏剂的制备一样, 水溶性的基质如含有液态或蜡状的聚乙二醇, 也需要在同一个釜内加热、熔化、冷却。

可能需要冷却、凝固、储存以备, 再复熔和包装。凝胶制备过程类似, 在一个混合釜内缓慢搅拌, 防止空气混入, 在搅拌得快的情况下, 很可能发生。防止空气泡形成很重要, 因为凝胶本身是透明或者半透明的, 而气泡是一个可见的污染。

## 防腐剂

半固体制剂在微生物含量方面需要达到一定的标准, 当易于引起微生物繁殖时, 要加入抗菌剂。抗菌性防腐剂维持产品的性能和完整, 保证消费者的健康和安全。美国药典在非无菌药品的微生物特性一节中作了规定。一个理想的防腐体系应该有这样的特性, 如在较低的用量下能够抵抗大量的微生物, 另外, 易溶、无毒、非致敏性、与其他组分相容、无味、稳定和价廉。此外, 它必须具有合适的油水分配系数, 并在该产品的 pH 下有效。

各种污染途径包括水、原材料、生产过程中恶劣的卫生环境、存储和使用过程。因而, 与不含水的制剂相比, 含水制剂更容易滋生微生物。如乳剂的生产, 通常加热到 70~80℃, 大多数的细菌可以被杀灭。然而, 可能由于运输线的不干净和不正确的清理、消毒, 和灌装设备的保护, 污染依旧可以存在。通常联合使用几种防腐剂以拓宽其抗菌活性谱, 因为通常单用一种防腐剂保护作用是不充分的。

外用半固体制剂的防腐要注意两类微生物, 一类能够致病的, 包括葡萄球菌和溶血性链球菌, 假单胞菌以及大肠杆菌; 一类能导致酸败的, 包括水、空气传播的霉菌、酵母菌等。下面介绍一些常用防腐剂的性质<sup>[26]</sup>。

## 对羟基苯甲酸酯类

对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯是两种最常用的防腐剂。这两种防腐剂防止发霉和发酵能力强,但是抑菌能力弱;对革兰氏阳性菌更有效,对革兰氏阴性菌作用弱;在酸性溶液中作用强,在碱性溶液中作用弱。这两种防腐剂一般合用,有效组合是0.2%的对羟基苯甲酸甲酯和0.05%的对羟基苯甲酸丙酯。

Dow化学公司的Dowcill 200是一种水溶性的广谱抗微生物和抗真菌化合物,在非离子型、阳离子型和阴离子型处方中均有效,特别是对假单胞菌作用强,其活性与pH无关,使用浓度为0.02%~0.3%。

Lonza公司的Glydant (MDMH)是一种水溶性、高活性、广谱防腐剂,化学名为二甲基醇-5, 5-二甲基乙内酰胺。它在宽的pH范围内均有效,无腐蚀性,毒性可接受,可以生物降解,使用浓度为0.005%~0.100%。

Sutton公司的Germall 115是一种易吸潮的水溶性白色粉末,化学名为咪唑烷基脲,可与化妆品成分如表面活性剂、蛋白质以及其他特殊成分配伍。与所有其他防腐剂合用有协同作用,对革兰氏阴性菌(包括假单胞菌)有效,与对羟基苯甲酸酯类合用(Germall 115 0.3%、对羟基苯甲酸甲酯0.2%、对羟基苯甲酸丙酯0.01%)可成为广谱抗霉菌、酵母菌的防腐剂。

Sutton公司的Germall II是一种水溶性、易潮解的粉末,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、假单胞菌等有效,与其他防腐剂合用有协同作用,如对羟基苯甲酸酯类。活性不受表面活性剂、蛋白质和乳剂影响,在各种pH环境下活性均高。推荐联用如下:Germall II 0.2%,对羟基苯甲酸甲酯0.2%,对羟基苯甲酸丙酯0.1%。

Sutton公司的Germaben II-E是一种透明液体防腐剂,以1.0%的浓度在W/O和O/W乳剂中溶解,不溶于水。其成分为Germall II 20%,对羟基苯甲酸甲酯10%,对羟基苯甲酸丙酯10%,丙二醇60%。

Sutton公司的Suttocide A是50%羟甲基甘氨酸钠的水溶液,是一种广谱抗微生物防腐剂,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、霉菌、酵母菌均有效。在碱性水溶液中仍保持活性。

Sutton公司的LiquaPar Oil是100%透明、有活性、稳定的液体混合物,由对羟基苯甲酸的异丙基、异丁基、正丁基酯类混合而成,此混合物即使在很低浓度下也能抑制革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、霉菌、酵母菌。长链烷基酯类较短链烷基酯类活性强,更加稳定,疏水性更强,使用浓度为0.1%~0.4%。

Buckman公司的Busan 1504 (CTFA)是一种水溶性的、广谱抗细菌、真菌的防腐剂,化学名二甲基羟甲基吡唑,可与非离子、阴离子、阳离子成分配伍使用,在宽的pH范围内稳定,也可以与蛋白质配伍,但未给出具体浓度。

EDTA为螯合剂,结合某些金属离子特别是铁和铜离子,而这些离子是某些微生物必需的营养成分。因而它是

一种较强的防腐活性加强剂<sup>[27,28]</sup>,特别是能加强对羟基苯甲酸酯类的活性。单独使用,它可促进细胞壁的通透性,杀死绿脓假单胞菌和大肠杆菌质粒,使用浓度0.05%~0.10%。

一些因素可能会影响防腐剂在保护制剂不受微生物污染的效果,这些因素包括表面活性剂、活性物质和其他载体成分与防腐剂相互作用,聚合物包装材料的吸附,以及产品的储存温度。尽管有上百种化学物质可作为防腐剂,但是仅有几种上市。这上市的几种防腐剂,不仅需看它的抗菌活性,也要看它在成品中的安全性和有效性。

半固体制剂的包装,通常在罐和管中,代表了最好和最差的微生物污染环境。使用罐时,每次打开罐或者手指接触,风险更高。因此,罐装的半固体制剂需要有相当有效并且长效的防腐保存体系来保证在产品有效期里具有活性。对于管,由于每次移动管盖只暴露很小的区域,所以微生物污染的风险明显降低。同时,管通过最小化在空气中的暴露以及与人的接触而控制一次的剂量。所以,管状包装的药品更少被污染,使用的防腐剂也更少,因此管状包装药品较少引起皮肤刺激和过敏。

## 包装

局部皮肤用药一般是瓶装或者管装,但是眼部、鼻腔、阴道和直肠的半固体药品几乎都是管装的。不管最终的包装容器如何,半固体药品必须符合FDA对药品的规定<sup>[29]</sup>:

适用的容器、瓶塞和其他药品包装的组分,必须不具备反应性、添加性或者吸附性,以免影响药品的鉴别、剂量、质量和纯度。所有药品的包装容器和瓶塞必须符合将药品置于上市包装中的稳定性试验。稳定性检验包括室温(如70°F)及加速条件(如105°F和120°F)下测试灌装

的包装。因为玻璃具有化学惰性、不渗透、坚固、坚硬,所以有FDA许可,是多数药品的理想容器。配有合适的封口系统,它为药品提供了除光外实际上所有因素的出色屏障。不透光的瓶用来保存光敏感的药品,一般采用瓷白色、墨绿色或者琥珀色。商用空软膏瓶体积从0.5oz (1oz=29.57mL)到1lb (1lb=453.59g)。

塑料容器比玻璃和金属(铝)容器更为流行。这是由于它有质轻、不易破裂、低廉的运输成本、便利的丝网印花和塑胶热转印标签等特点。但是,它的缺点是有两个方向的渗透性——药品外渗和周围环境因素的内渗。

用于乳剂的塑料容器必须对乳剂中的物理化学变化以及容器中的物理变化全面评估。药品和塑料的相互作用可以分为5种类型:渗透、滤取、吸附、化学反应、塑料或者药品的物理性质的变化<sup>[30,31]</sup>。为了充分保护药品,在药品研发期间对容器的评价是必要的。USP/NF提供证明树脂等价性的检验的实验计划和标准,检验分为三种:化学、光谱特征和湿度屏障<sup>[7]</sup>。一些塑料的样品含高密度、低密度聚乙烯或者两者的混合物、聚丙烯、聚对苯二甲酸乙酯,

## B

及各种塑料/箔片/纸薄片,有时可能有10层厚<sup>[32]</sup>。每一种塑料都有各自的特性和优势适用于半固体的包装。例如,低密度聚乙烯柔软有弹性,有很好的湿度屏障。高密度聚乙烯有更优良的湿度屏障,但是弹性较差。聚丙烯高耐热,聚对苯二甲酸乙酯透光性好,有很好的化学相容性。因此,塑料和涂层塑料总体上比金属管更适合药剂和美容品的包装。

## 质量控制

质控测量的目的是保证为消费者提供高质量的产品。质量控制包含相当范围的责任,包括成分和成品的检测、生产过程中的检测和控制。符合 cGMP 的法规,工艺验证以及操作的良好管理如设计、生产、包装、检测和发放都是整个质量保证中的一部分。质量控制在检测、工艺验证所需做的决策中提供关键性支持。质量控制部门的活动和责任包括很大范围的检测及其他活动<sup>[33]</sup>。质量控制的目标是通过确证各批产品均符合规范来保证不同批产品的一致性。决定半固体制剂的质量保障的参数通常包括原材料标

准、生产过程中的控制和成品标准。任何药物的关键参数是在可控的药物临床试验中表现出来的药物有效性。然而,在这些试验上的时间和资金的花费使得他们作为一个常规的质量控制方法不合适。因此,经常进行在体外的代用试验来确保产品质量和性质能长时间保持,即使发生一些变更时也是如此。如图9的流程中所示,有很多种物理的和化学的方法对产品和组成进行测试,如溶解性、活性物质的粒径和晶型,产品的黏性和均一性等,历史上已经提供了有关产品性能一致的合理的证据。最近,体外释放测试已经证明有望成为可以广泛地确保半固体制剂中活性物质的相同释药的检验方法<sup>[34]</sup>。体外释放速率可以反映出各种物理和化学参数的相互影响,包括溶解性、有效成分的粒径、剂型的流变学特性。在大多数的例子里,体外释放率是一个有效的测试,它可以估计在产品变更前后的相似性。最近,用于含肽的凝胶处方的体外释放说明,释放度测试可以用于确保产品在规模放大和批准后变更(SUPAC)的相似性<sup>[35]</sup>。然而,用任何测试,应该从尺度和统计学考虑确保质量上相似性。对于一些药品,与以前产品的生物等效性可以作为附加的参数<sup>[36]</sup>。

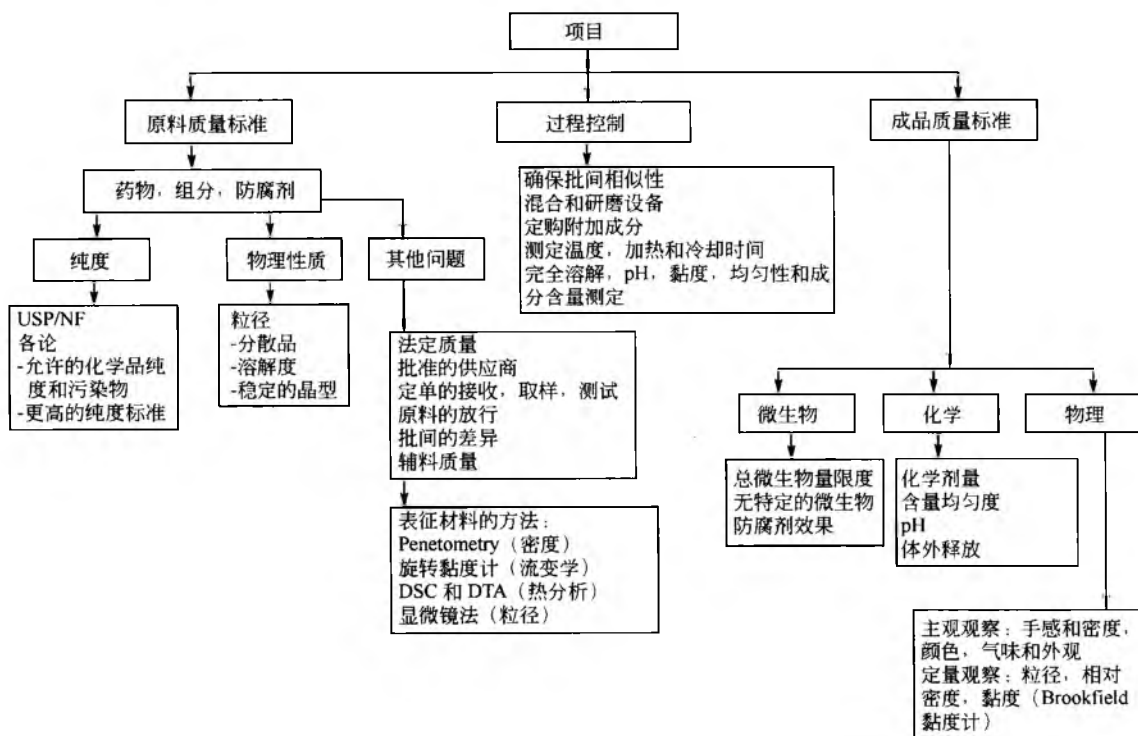


图9 半固体制剂的质量控制

## 稳定性

稳定性测试是药物和药品的一个常规的检测程序。它涉及产品开发的几个阶段。在较早的阶段,可采用加速稳

定性测试(在较高的温度和湿度条件下)来确定降解产物的类型,这些降解产物可能在长期储存后出现。在更加温和的环境下(即推荐的长期储存)及稍高温度下试验可以用来确定产品的储藏期以及有效期。

根据FDA起草的行业指南<sup>[1]</sup>,半固体制剂应该对以下

方面进行评估:外观、纯净度、色泽、均匀性、气味、pH、密度、黏度、粒径大小和分布(如果可行)、含量、降解产物、防腐剂和抗氧剂含量(如果有)、微生物限度/无菌、失重(如果合适的话)。此外,从批准的批产品中留样用于稳定性试验,以防止市场上产品不合格。回收和样品与留样的样品一起测试,以确认问题是生产中的还是储存中的。对于密封管中的样品要提供适当的稳定性数据,以支持患者使用期间以及封口刺破后的最大预期使用时间。软膏、糊剂、凝胶以及装在大容器里的包括管子里的乳膏应在容器的表面、顶部、中间,以及底部抽样。另外,应当在管子靠近皱褶处抽样。

对于认为是稳定的产品,其必须在一定限度内保留与生产时相同的品质和特点<sup>[7]</sup>,在产品被生产出来储存一定时间后,应当仍能保持稳定。当测定产品的稳定性时,目的是确定在工业化规模的制造和包装时,该产品在市场中及使用条件下是否有足够的储藏期。FDA要求稳定性数据至少基于处方和包装相同的三个批次,这些数据应当是工业化规模或任何其他相同的工艺(在关键的参数方面)生产的产品的数据。为了建立一个稳定性概况,产品的储存稳定性测试必须仔细计划和实施。

广泛采用的加速和极端试验的预测方法依赖于产品在严格控制条件下的储存。在加速环境下的研究为制定产品有效期和产品的稳定性提供了有用的数据,可用于将来的产品开发,如对预期的生产变更包括处方和生产规模的放大所作的预评估。这些研究也有助于稳定性研究的分析方法验证,还有助于阐明药物或药品的降解概况。在极端环境下的研究也许可以决定偶然的暴露(非有计划的暴露,如运输中)是否对产品有害,也可以用来评估某个特定的测试参数可能是产品稳定性的最好指标。

一个稳定性计划包括产品在加速环境下的老化、湿度、湿度和光照。其他类型的加速或者极端测试包括离心、运输测试和某种形式的产品应用测试。这些产品应用测试的目的主要是评估产品的防腐剂效果,以及确保产品的物理性质能够在使用条件下保持稳定,能够用于预期的用途。另外一种有效的测试方法是让产品低强度振摇数小时或者数天。产品稳定性计划的关键参数包括对特定的加速储存条件的选择,在试验条件(或者稳定条件)下稳定性样本如何储存,测试间隔以及检测样本。一个有代表性的稳定性计划可以参照以下例子。

**样品:**每个样品皆以一个单位在试验箱中倒置存放。同样数量的单位直立放置作为对照样品。这些样品可能包括侧放的单位。在每个稳定性装置中必须放更多的样品,以便必要时对样品进行进一步研究。

**稳定性装置以及取样周期:**使用3个24h的冷冻-融化周期:50℃时,1、2、3个月;40℃时,1、3、6、12个月;25℃(室温)时,1、6、12、18、24、36个月;在每个时期的最后,对样本的化学和物理性质进行评估,并且需对产品和包装的相容性进行检查。显微镜检查对样本的颗粒大小以及晶体结构改变非常有用。对产品和其容器的

相容性的评估包括质量和湿度的损失(如可行)。关键成分浓度的下降是由于和容器的材料结合或者穿透容器壁的缘故。也应对容器进行检查以评估产品和容器表面的相互作用。稳定性计划的目的是测量在各种极端条件下,样本中可观察到的变化。稳定性测试最困难的方面是应用这些信息来决定产品储存的稳定性概况及在上市条件下的有效期。对于半固体制剂来说,更为困难。因为加速试验和其他极端稳定性试验会引起制剂成分关键性质实际上的改变,高的储存温度造成溶解度的变化,药物和防腐剂之间的分配的改变,产品流变性的改变,也有可能乳剂中稳定剂的界面性质的改变。因此稳定性测试结果,如果在不反映真实的产品暴露环境下进行,会造成误导。通常,进行加速测定以获得产品的稳定性资料是有用的,然而,在不现实的极端条件下试验对预测在正常上市和使用条件下的有效期是没有用的<sup>[37]</sup>。因此,认识到稳定性测试中加速条件对产品特性的影响,以及在加速条件撤去后产品是否能回到正常状态是重要的。为了这个目的,药剂学要依靠通过适当研究获得的知识以判断体系的物理化学性质。

## 参考文献

1. Shah, V. P. FDA Guidance for Industry Document Nonsterile Semisolid Dosage Forms; Center for Drug Evaluation and Research; Rockville, MD, 1997; 1-40.
2. Flynn, G. L. Cutaneous and Transdermal Delivery; Processes and Systems of Delivery. Modern Pharmaceutics, 3rd Ed.; Banker, G. S., Rhodes, C. T., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1995; 272-298.
3. Idson, B.; Lazarus, L. Semisolids. Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3rd Ed.; Williams and Williams; Baltimore, MD, 1986; 534-563.
4. Block, L. H. Medicated Applications. Remington; The Science and Practice of Pharmacy, 17th Ed.; Gennaro, A. R. Ed.; Mack Publishing Co. Easton, PA, 1995; 1577-1597.
5. Erdi, N. Z.; Cruz, M. M.; Battista, O. A. Rheological Characteristics of Polymeric Gels. J. Colloid Interface Sci. 1968, 28, 36.
6. Franks, A. J. Hydrocarbon Bases for Ointments and Creams. Soap, Perfumes and Cosmetics 1964, 37, 221-319.
7. Ophthalmic Ointments. In United States Pharmacopoeia, 23rd Ed.; The Pharmacopoeial Convention, Inc.; Rockville, MD, 1995; 1812.
8. Lee, J. Y. Sterilization Control and Validation for Topical Ointments. Pharm. Tech. 1992, 16, 104-110.
9. Hameyer, P. Novel Emulsifiers for W/O Emulsion Preparations. Household Profess. Prod. Indust. 1993, 4, 27-31.

10. Information About Cosmetic Ingredients. Dow Corning Bulletin; Midland, MI, 1988.
11. Surface Active Agents. Croda Formulary Update; Croda, Inc.; New Jersey, 1999; 11—15.
12. In Creanova Product Literature; Degussa-Huls America, Inc.; Piscataway, NJ, 2000.
13. Griffin, W. C. Hydrophilic-Lipophilic Balance. J. Soc. Cosmet. Chem. 1949, 1, 311.
14. International Cosmetic Ingredients Dictionary; The Cosmetic, Toiletries and Fragrance Association; Washington, DC, 2000; 1250—1261.
15. McCutcheons Surfactants and Emulsifiers; McCutcheon Directories; Princeton, WI, 2000; 150—166.
16. Paul, B. K.; Moulik, S. P. Microemulsions. Overview. J. Disper. Sci. Tech. 1997, 18, 301—367.
17. Lawrence, M. J. Surfactant Systems; Microemulsions and Vesicles as Vehicles for Delivery. Eur. J. Drug Metab. Pharm. 1994, 3, 257—269.
18. Bhargava, H. N.; Narurkab, A.; Lieb, L. M. Using Micro-Emulsions for Drug Delivery. Pharm. Tech. 1987, 11, 46.
19. Prince, L. M. Microemulsions. Theory and Practice; Academic Press; New York, 1977; 511—531.
20. Friberg, S. E.; Venable, R. Microemulsions. Encyclopedia of Emulsion Technology; Becher, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1983; 1, 128—185.
21. Juch, R. D.; Ruffli, Th.; Surber, C. Pastes; What Do They Contain? How Do They Work? Dermatology 1994, 189, 373—377.
22. Ansel, H. C.; Allen, L. V., Jr.; Popovich, N. G. Ointments, Creams and Gels. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Ed.; Lippincott, Williams and Wilkins; Philadelphia, 1999; 244—262.
23. Murdan, S.; Gregoriadis, G.; Florence, A. T. Novel Sorbitan Monostearate Organogels. J. Pharm. Sci. 1999, 6, 608—614.
24. Hermans, P. H. Colloid Science; Kruyt, H. R., Ed.; Elsevier; Amsterdam, 1969; 11, 483—651.
25. Gennaro, A. R. Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Ed.; Mack Publishing Co., 3rd Ed.; Easton PA, 1990; 1640.
26. Bandelin, F. J.; Sheth, B. B. Semisolid Preparations. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 31—61.
27. Kabara, J. J. GRAS Antimicrobial Agents for Cosmetic Products. J. Soc. Cos. Chem. 1980, 31, 1—10.
28. Kabara, J. J. Structure-Function Relationships of Surfactants as Antimicrobial Agents. J. Soc. Cos. Chem. 1978, 29, 733—741.
29. FDA Good Manufacturing Practices Regulations; Fed. Register, 1974; 9.
30. Modern Plastics Encyclopedia; McGraw-Hill Inc.; New York, 1992; 49.
31. Varsona, J.; Gilbert, S. G. Proceedings of the Plastic Packaging Institute; Grosset and Dunlap; New York, 1991; 122—131.
32. Forcinio, H. Tubes the Ideal Package for Semisolids. Pharm. Tech. 1998, 22 (1), 32—36.
33. Hanna, S. A. Quality Assurance. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems; Lieberman, H. A., Rieger, M. M., Banker, G. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 2, 631—680.
34. Shah, V. P.; Elkins, J. S.; Williams, R. L. Evaluation of the Test System Used for In Vitro Release of Drugs for Topical Dermatological Drug Products. Pharm. Dev. Tech. 1999, 4 (3), 377—385.
35. Badkar, A.; Talluri, K.; Tenjarla, S.; Jaynes, J.; Banga, A. K. In Vitro Release Testing of a Peptide. Gel. Pharm. Tech. 2000, 1, 44—52.
36. Van Buskirk, G. A.; Shah, V. P.; Adair, D.; Arbit, H. M.; Dighe, S. V.; Fawzi, M.; Feldman, T.; Flynn, G. L.; Gonzalez, M. A.; Gray, V. A.; Guy, R. H.; Herd, A. K.; Hem, S. L.; Hoiberg, C.; Jerussi, R.; Kaplan, A. S.; Lesko, L. J.; Malinowski, H. J.; Meltzer, N. M.; Nedich, R. L.; Pearce, D. M.; Peck, G.; Rudman, A.; Savello, D.; Schwartz, J. B.; Schwartz, P.; Skelly, J. P.; Vanderlaan, R. K.; Wang, J. C. T.; Weiner, N.; Winkel, D. R.; Zatz, J. L. Workshop III Report; Scale Up of Liquid and Semisolid Disperse Systems. Pharm. Res. 1994, 11 (8), 1216—1220.
37. Rieger, M. M. Skin Care; New Concepts vs. Established Practices. Cosm. Toiletr. 1991, 106, 59—69.

(李杰译)

# 保证药品质量的微生物学

Anthony M. Cundell .

Wyeth-Ayerst Pharmaceuticals, Pearl River, New York, U. S. A.

## 引言

在产品开发、生产工艺开发,以及在对生产环境、生产使用的常规原料、材料和产品测试等的微生物控制保证方面,药品微生物学家起着重要的作用。有经验的微生物学家能参与到产品生命周期的每个阶段对保持产品质量很关键,主要包括参与药品配方的制定、制造工艺的开发以及制定出能够避免产品遭受微生物污染的规范。本章将讨论微生物学家在药品的质量、纯度、功效和安全性等方面的作用和药品出售过程的参与程度,以及探索药品微生物学家未来将面临的挑战领域。

通过对管理制药工业规则的回顾,我们可以概括出微生物学家的一些常规职责。管理制药工业的美国联邦法规称为“药品生产质量管理规范”(cGMP)。美国食品药品监督管理局(FDA)受命根据1962年新药修正案制订了美国联邦食品、药品和化妆品法案,这个法案具有法律效力,用来确保药品生产企业保证他们产品的安全、特性、浓度、质量和纯度。这些官方法规发表在1978年9月29日的《联邦法规》第21章第211~226节中<sup>[1]</sup>。这些规范被认为是最低的要求,如果在制造、加工、包装或储存药物的过程中不能遵守这些规定中的任何部分,按照《美国食品、药品和化妆品法》501(a)(2)(B)<sup>[2]</sup>所生产的产品都属于不合格产品。这些产品以及违规的责任人员将会受到相应的法规处罚。

在《药品生产质量管理规范》中,与药品微生物学家最相关的章节包括“组织和人员”的次章节B、第211.22款“质量控制部门的责任”、第211.25款“人员资质”、第211.113款“微生物污染控制”以及“实验室控制”、第211.167款“特殊测试”。

《药品生产质量管理规范》要求药品生产企业有一个独立的质量控制部门,由这个部门负责检验通过或拒绝接受相关的所有成分、药品容器、原材料包装、生产中用的材料、外包装材料、标签和药品,检查生产记录是否出现错误以及对生产中出现的偏差进行调查。质量控制部门还要负责检查并批准所有对产品有影响的规范和程序,主持对生产中出现的偏差以及产品问题进行调查。

质量控制部门必须配备健全的测试实验室,这样能帮助在其控制下的原料通过批准。其中一个实验室应配备合适的设备和人员以实施微生物测试。质量控制部门并不需要管理微生物实验室,实验室可以由质量控制和研发,甚至由生产部门来运营,甚至也可以是签约的一个实验室,只要它能符合《药品生产质量管理规范》的要求以及能够

对质量控制部门的要求负责。虽然这不是必要条件,但是通过审查程序来确保微生物实验室满足所有规章制度和公司内部政策是工业生产的惯例。

第211.25款“人员资质”要求参与所有药物生产各方面的全体人员都要受过相应的教育、培训并且有一定的经验,以帮助他们履行职责。对实验室人员来说,对《药品生产质量管理规范》的规章制度有很好的了解也是同样重要的。例如,在实验室中工作的微生物学家应该有微生物或相关生命科学的学士学位,接受过足够的在微生物实验室里实施实验室操作程序和试验记录的培训,并应按照他们的技术和经验水平来分配责任。负有监督和管理责任的微生物学家需要接受在管理技能、计划、预算、实验室调研、技术报告书写、药品和生产工序等方面的培训,他们需要理解质量控制部门的要求并确保部门能够得到及时有效的高质量测试报告。由于需要及时生产、试验和发布产品,他们应该能在压力下出色完成工作并具有团队协作精神。

从传统的测试方法向基于核酸测试方法转变来看,实验微生物学家、主管和经理的教育背景就显得更加重要。微生物学测试要求相关人员、主管和经理的主要教育背景最好是微生物学,无菌技术的培训经历和经验也是必需的。作者认为,如果没有通过强化培训,化学家、药物学家甚至生物学家的那套技术也不能使他們和微生物学家一样有效率地工作。对药物微生物学家非常宝贵的教育课程包括:

- 对细菌和真菌的分离、计数和鉴定;
- 病原微生物学;
- 微生物生理学和生物化学;
- 有机、无机、物理化学和定量分析化学的基本知识;
- 物理学的基本知识;
- 数学的基本知识;
- 药物生产的基本知识;
- 统计和概率的基本知识;
- 技术报告填写的书面和口头表达。

根据第211.113款“微生物污染控制”,药物生产企业需要有书面的文件专门用来描述如何避免无菌和非无菌药品中出现微生物。所有药品生产过程中的消毒程序都需要通过认证。

在出厂前,每一批药品都需要通过实验室测试以确定这批产品是否符合要求,包括每一种有效成分的确认和含量测定。对有效期非常短的每批放射性药品做无菌和(或)热原测试时,这些批次的药品可以在测试完成前出厂,只要测试能够尽快完成。第211.165款“销售前的测试和出

## B

厂”指出,如有必要,需要控制有害微生物污染的每一批药品需通过适当的实验室测试。这就表示并不是每一批药品都需要通过微生物评估。

在产品开发方面,药品微生物学家在向市场提供安全的药品方面起着关键的作用。典型的例子是在研发(R&D)部门中的分析开发小组中可以发现有微生物学家。研发微生物学家的作用是开发和认证可以用于新药的微生物测试,并证明这些新药没有受到过多的微生物及致病性微生物的污染。而这种污染很可能使患者受感染并且降低药品在有效期内的功效。

这些测试包括微生物限度、无菌、细菌内毒素和防腐剂的法定测试。

在第二阶段临床实验前,我们要针对每一种新药进行这些法定测试的开发,并进行质控。临床实验会涉及100~200个受试者。考虑到将一种新药推向市场的巨大投资大概为2.5亿~5亿美元,通过对可能受有害微生物污染的药品的管理而使新药的前途以及临床实验者免遭危险是相当重要的。然而为了使微生物测试的结果有意义,则需要检验微生物测试法是否对每种药品都是适用的。

许多药品含有活性药物成分或包含了防腐剂以抑制与产品共存细菌的生长。这种抑制效应可以通过使用中和剂使活性成分或防腐剂灭活,以及通过稀释消除抑制,或是两种策略的组合来克服。美国药典中第51章“抗菌剂效力测试”;第61章“微生物限度试验”和第71章“无菌试验”包括了如何检验测试方法以便运用于特殊的药品和在此过程中使用的微生物的特别指导。

整个制药过程包括原料管理、制造和质量管理,所关注的重点是研发微生物学家是否开发了能够满足质量管理、生命力强并能使药品的常规出厂测试的检验更加简便的标准的微生物测试方法。两个部门的微生物学家之间良好的交流能够确保大多数合适的测试实现从研发部门向质量管理部门平稳的技术转移。在生产工序的开发阶段,应该向有经验的微生物学家咨询有关潜在的产品微生物污染问题,相关问题包括合适的药物成分的选择、生产步骤中控制微生物污染的能力、灭菌程序的认证、设备的清洗和消毒、适当的供水系统、中间体的储存时间、人员培训和包装设计。

## 现行微生物学测试条例

总的来说,当前应用于药品的常规微生物测试方法是保守的,且可能用它来裁决有关药品的微生物污染问题。美国药典(USP)被认为是美国食品、药品及化妆品(FDC)法规的纲要。药物的鉴别、剂型、质量及纯度是由美国药典规定的标准来决定的。美国药典各论从第1~999章,包含了对试验和测定法的要求,而从第1000章之后则是通则部分。对药物微生物学家来说,特别感兴趣的是美国药典24版中的第1116章“对洁净室和其他受控环境的微生物评估”、第1111章“药品的微生物特性”、第1225

章“法定方法的认证”和第1231章“制药用水”<sup>[3]</sup>。有关药品微生物学测试的章节与日本药典和欧洲药典的对应章节如下。

### 1. 美国药典第51章“防腐剂效力测试”

防腐剂是加入到各种用途的非灭菌液体、油膏和乳剂,以及灭菌注射用产品中以防止微生物污染的物质。微生物污染在使用时(生产后)由于疏忽而引起。

防腐剂效力测试的目的是证明所加入抗菌防腐剂的有有效性。简要参考章节包括美国药典24版第51章“防腐剂效力测试”;日本药典第13版总则第3章“防腐剂有有效性测试”;欧洲药典第三版《微生物测试》第5.1.3节“防腐剂效力测试”。

### 2. 美国药典第61章“微生物限度试验”

30多年来,在药典的概要中设立了对原材料、赋形剂、主要成分和药品的微生物限度试验。这些测试列在美国药典24版第61章“微生物限度试验”;欧洲药典第三版《微生物测试》第2.6.12节和第2.6.13节“不需要符合无菌试验的产品的微生物污染(包括活菌数测定和特定微生物试验)”;日本药典13版第30章“微生物限度试验”中。

### 3. 美国药典第71章“无菌试验”

无菌试验可以用于确定原料药、原料或药品按照法定方法是否是无菌的。一个令人满意的结果是根据测试的条件,在被测试的样品中没有发现污染的微生物,因此测试结果取决于所采用的采样方案。无菌试验主要参考部分包括美国药典第71章“无菌试验”、欧洲药典第三版《生物测试》第2.6.1节“无菌”和日本药典13版第45章“无菌试验”。

### 4. “总则”第1116章——洁净室和其他受控环境的微生物学评估

在美国药典24版总则第1116章“洁净室和其他受控环境的微生物学评估”中讨论了关于在无菌制药过程中使用的设备、空气、物体表面和相关人员的微生物监控。该部分还包含了微生物学监控程序的设计和实施,并且就监控的频率和微生物学上可接受的标准提出了建议。

### 5. 美国药典第1231章“制药用水”

在美国药典第1231章“制药用水”中列举了水的类型以及测试的方法和标准。美国药典在有关特定试验方法方面还参考了第19版《制药用水和废水检测的标准方法》(APHA)<sup>[4]</sup>。

### 6. 其他测试方法

基于先进的技术,市场上新的微生物测试方法不断出现,这些新的测试方法改善了及时性和测试质量。

美国药典24版通则中提出可以用替代方法来决定产品





是否符合药典标准，而这些替代方法在准确度、灵敏度、精确度、选择性、运用计算机简化数据、在其他特殊环境的适应能力等方面具有优势。这些替代方法或自动化方法都必须通过认证，然而当出现分歧时，法定测试方法仍将起决定性作用，因为它是官方的并具有裁决作用的方法。另外美国药典第 61 章“微生物限度试验”指出可以用自动化方法来替代，只要它能提供相同的或者更好的结果。有鉴于美国药典第 71 章“无菌试验”指出只要通过替代程序得到的结果是同样可靠的，我们可以使用替代程序来证明一个物体是无菌的。

如果要替代法定方法，我们并不需要预先得到 FDA 的批准，根据 CFR314.70 款，“对已批准应用的补充和其他变化”，替代分析方法的加或减并不需要得到预先批准，只要在《年度产品报告》中备案就可以了。然而，我们需要向管理机构提供替代方法等同的文件，或者在生产现场向 FDA 的调查员提供方法认证报告。当测试方法特别新颖的时候，我们建议最好在 NDA 的附录中包括测试的内容，以便 FDA 可以检查新的测试方法和公司可以在新的测试方法实施前能够预先得到 FDA 的批准。

## 保证药品质量的微生物测试实验室部门

在质量管理部门中，微生物学管理者有三个主要职责：  
①建立和运行微生物测试实验室，并为其配备人员；②通

过分析原料、制药用水、制造环境以及提交给实验室的产品来对药品生产现场的微生物污染进行监控；③向质量管理部门提供有关微生物学的专业知识，以避免微生物污染。

微生物学管理者有责任建立一个建造优良、设备齐全的实验室，并聘用受过良好教育、有技术和经验的人员，按照公司政策和《药品生产质量管理规范》的规定来运营实验室。公司业务要求微生物测试能够及时进行，使产品可以发放到市场。

在制药生产现场建立的微生物监控程序需根据在当地生产的药品范围而定。在表 1 中列举了为出厂测试而设计的典型的微生物监控程序和无菌以及非无菌生产现场的环境监控。

当选择基于《药品生产质量管理规范》和法定要求的药品的上市产品稳定性项目的微生物测试方案时，以遵循制表列出的规程。

这些方法同下列法规一致，包括 CFR 21 章第 211.113 节“微生物污染控制”b 段、第 211.137 节“有效日期”、第 211.167 节“特殊测试要求”a 段；《美国药典》第 24 版第 51 章“防腐剂效力测试”、第 61 章“微生物限度试验”、第 71 章“无菌试验”、第 85 章“细菌内毒素测试”、通则第 1151 章“药物剂量”；和 1998 年 6 月发表的《原料药和药物制剂的稳定性试验 FDA 草案》的指导文件<sup>[5]</sup>。项目中包括的测试如下：①防腐剂效力测试；②微生物限度试验；③无菌试验；④细菌内毒素测试；⑤容器密封完整性测试。

表 2 概括了可能的测试政策。

表 1 样品微生物监控计划

剂 型	监 控	频 率
片剂和胶囊剂	药物辅料	依据历史确定周期；依据供应商提供的分析证明确定规则
	纯水	管路每天一次、排水孔每周一次
	生产环境	每季度一次
	产品	由于片剂和胶囊剂含水量低，依据历史确定周期
透皮制剂、耳用制剂、阴道和直肠给药的产品	药物辅料	依据历史确定周期；依据供应商提供的分析证明确定规则
	纯水	管路每天一次、排水孔每周一次
	生产环境	每周或每月一次
	产品	含水量高的产品进行常规检查；含水量低的产品，依据历史确定周期
鼻腔喷雾和吸入剂	药物辅料	依据历史确定周期；依据供应商提供的分析证明确定规则
	纯水	管路每天一次、排水孔每周一次
	生产环境	每日或每周一次
	产品	含水量高的产品进行常规检查；含水量低的产品，依据时间的变化确定周期
注射产品，眼用产品和吸入溶液	药物辅料	依据历史确定周期；依据供应商提供的分析证明确定规则
	纯水	管路和排水孔每天检查一次
	生产环境	在严格无菌操作区每次换班时
	产品	除了出厂参数已被认可的最终灭菌产品外，每批均要检查

表 2 样品测试政策

剂 型	微生物试验	试验计划	试验间隔 <sup>1)</sup>
片剂, 粉末和液体填充胶囊	微生物限度试验 (仅 TAMC 和 TCYMC)	建立检测方法, 放大试验及仅成批验证	0、6、12、24 和 36 个月
局部用液体制剂, 软膏剂和乳膏剂	微生物限度试验 (仅 TAMC 和 TCYMC); 对于多次使用的产品, 进行 USP 抗菌剂效力试验 (AET)	$A_w < 0.75$ 建立检测方法, 放大试验及仅成批验证; $A_w > 0.75$ 对于微生物限度所有批次就稳定性进行检查及前三批进行抗菌剂效力试验 (AE) <sup>2)</sup>	0、6、12、24 和 36 个月; 0, 稳定性期的中间和失效期
阴道用乳膏剂和栓剂	微生物限度试验 (仅 TAMC 和 TCYMC) 和 AET	$A_w < 0.75$ 建立检测方法, 放大试验及仅成批验证; $A_w > 0.75$ 对于微生物限度所有批次就稳定性进行检查及前三批就进行抗菌剂效力试验 (AE) <sup>2)</sup>	0、6、12、24 和 36 个月
直肠用乳膏剂和栓剂	微生物限度试验 (仅 TAMC 和 TCYMC) 和 AET	$A_w < 0.75$ 建立检测方法, 放大试验及仅成批验证; $A_w > 0.75$ 对于微生物限度所有批次就稳定性进行检查及前三批就进行抗菌剂效力试验 (AE) <sup>2)</sup>	0、6、12、24 和 36 个月
鼻腔喷雾剂	微生物限度试验 (仅 TAMC 和 TCYMC) 和 AET	$A_w < 0.75$ 建立检测方法, 放大试验及仅成批验证; $A_w > 0.75$ 对于微生物限度所有批次就稳定性进行检查及前三批就进行抗菌剂效力试验 (AE) <sup>2)</sup>	0、6、12、24 和 36 个月
吸入喷雾剂和气雾剂	微生物限度试验 (仅 TAMC 和 TCYMC) 和 AET	$A_w < 0.75$ 建立检测方法, 放大试验及仅成批验证; $A_w > 0.75$ 对于微生物限度所有批次就稳定性进行检查及前三批就进行抗菌剂效力试验 (AE) <sup>2)</sup>	0、6、12、24 和 36 个月
眼用软膏剂和溶液剂	无菌试验, 容器密闭完整性检查 (CCI) 和 AET	除了前三批样品检测 AE <sup>2)</sup> 外, 其他所有批次进行稳定性检查	0、12、24 和 36 个月
注射用和吸入溶液剂	无菌试验; CCI 和 AET; 细菌内毒素试验	除了前三批样品检测 AE <sup>2)</sup> 外, 其他所有批次进行稳定性检查	仅 0; 0、12、24 和 36 个月; 仅 0 和失效期

1) 时间间隔遵从 1998 年 FDA 稳定性指导草案。如果有效期超过 36 个月可进行额外的年度检测。

2) 通过证实指示物代表的 50%、75% 和 100% 的防腐效果来证明在所有时间间隔使用稳定性-指示防腐剂测定法可作为 USP 抗菌剂效力试验的替代。

## 1. 防腐剂效力测试

下列原则可应用于上市前、后产品稳定性试验计划的防腐剂效力测试:

(1) 选择可用于多用途新药的防腐剂配方是研发部门的责任。一般有效期内要求的范围为标示量的 80%~120%。对一个特殊处方, 合适的防腐剂应该通过浓度至少为目标浓度的 75%, 更理想的为目标浓度的 50% 时的微生物测试来证明它的有效性。我们推荐在开发过程中, 产品应该按照标示防腐剂浓度的 100%、75% 和 50% 来配方和通过防腐剂效力测试来决定最低有效防腐浓度。

(2) 应该根据防腐剂浓度和防腐剂效力测试结果和上市前的稳定性数据来建立出厂和有效期的规定。

(3) 如果在 (1) 中概括的研究不是在产品开发期间进行的, 我们推荐质量管理和技术服务部门进行研究, 为稳定性项目中消除常规防腐剂效力测试提供依据。

(4) 所有用于注射和非无菌给药方式的防腐剂都必须 在 14 天内能使细菌以 3 个对数级的速度下降, 这是美国药典的要求。只有在市场部门要求时, 才进行欧洲药典、英国药典所规定的防腐剂效力测试。

(5) 防腐剂效力测试应该包括对供认证使用的试验性产品和新产品的前三批商业化产品分别为 3 个月、12 个月、24 个月和 36 个月进行测试。

(6) 对于随后批次的产品, 应该只使用化学分析来确认防腐剂水平, 因为在有效期内的有效性已经得到了证明。如果配方有变化, 则必须通过至少一批次整个有效期内的效力试验来证明防腐剂的有效性。

(7) 在配方开发时选择使用外加的微生物应该由以下因素决定: ①防腐剂的活度范围, 即如果一个防腐剂可以降低假单胞菌的活度, 则应该加入假单胞菌或类似菌于测试菌中进行测试; ②此类微生物是否对产品有害; ③在制造环境和产品监控中, 可分离到微生物的频率。

(8) 重复考核应该仅限于那些由于用药部位和消费者多次使用不当造成的配方困难和限制而且又不能改进的防腐剂的评估之时。

## 2. 微生物限度试验

下列原则适用于上市前、后产品稳定性试验计划中的微生物限度试验：

(1) 在上市产品的稳定性试验计划中，是否需要进行常规微生物限度试验取决于药品不同的剂型，最典型的就是仅对非无菌药品，特别是口服液、喷鼻剂以及对含有充足水分能支持微生物生长的局部用药的液体、洗液和乳剂等制剂进行测试。相反，片剂、粉剂和软胶囊、局部油膏剂、阴道用和直肠用栓剂、非水性液体和含水非常少不足以支持微生物生长的吸入气雾剂等都不需要进行常规测试。

(2) 要建立一个微生物限度试验的记录，对于有关非无菌制剂的开发、临床试验、扩大规模和工序认证，所有批次的产品都要接受测试，以证明原材料、制造过程和包装都没有带来微生物污染。在测试记录建立后，水活度低于 0.75 的产品在稳定性试验计划中不应包括微生物限度的测试。

## 3. 无菌试验

下列原则适用于上市前、后产品稳定性试验计划中的无菌试验：

(1) 所有注射用和眼用产品应该在出厂前接受无菌试验，其中按照参数放行的最终灭菌产品可以例外。

(2) 由于注射用或眼用药品的无菌是由无菌分装和最终灭菌产品的无菌验证保障的，在过去的稳定性试验计划中包括无菌试验，它被用作考察在整个有效期内产品容器密封完整性的一个指标。如果继续需要，即由于先前的方案要求包括无菌试验，那么我们推荐在产品出厂和过期时做无菌试验。

(3) 只要有可能，我们应该按照 FDA 稳定性指导草案推荐的那样用容器密封完整性测试来替代无菌试验。

## 4. 细菌内毒素测试

下列原则适用于上市前、后产品稳定性试验计划中的细菌内毒素测试：

(1) 所有注射用药品都要在出厂前接受细菌内毒素测试。

(2) 由于产品中没有出现细菌生长的情况，在有效期内储存的药品内毒素水平不会提高。稳定性试验方案中不包括细胞内毒素测试，如果仍有需求，要将内毒素测试包括在内，推荐在产品出厂和过期时做细菌内毒素测试。

## 5. 容器密封完整性测试

下列原则适用于上市前、后产品稳定性试验计划中的容器完整性测试：

(1) 在将容器密封系统的完整性作为一种对微生物污染的防护手段时，必须通过一种足够敏感且经过充分认证的容器密封性测试来评价。

(2) 我们可以参照细菌液体浸没试验来从一系列的物理容器密封完整性测试方法中选择和认证一种合适的方法。物理的检漏测试与细菌的进入相关。

(3) 应该在考虑了容器密封的类型、操作标准和合适的认证方法之后，再来选择物理容器密封完整性测试方法。

(4) 在相关文献中记载的测试方法包括气泡、氦气质谱分析、液体追踪（染色）、顶空分析、减压/真空、质量减失/增加以及高电压泄露检测<sup>[6]</sup>。

(5) 测试所需要的样品数应该反映美国药典第 71 章“无菌试验”中提出的要求。

(6) 测试应该是每年一次和在产品过期时进行。

微生物学专家向“生产和质量管理部门”提供微生物学知识的第三个作用是很重要的，因为在某些公司中，相关部门对微生物学缺乏足够的知识。

比较典型的是，管理部门人员接受的是化学、工程、商业或药学的教育。微生物学家应该帮助管理部门对有关微生物方面的问题做出最好的判断。假设我们的最终目标是防止药物及非处方药受到微生物污染，那么药物微生物学家对微生物测试、传染病、法定法修改、法规事宜、产品处方和制造工序的领域都有所了解就显得非常重要，只有这样他们才能提供可靠的建议。

在对原材料和产品做微生物测试时常常会没有充分考虑到它们的重要性。有时，我们将购买的原材料和产品的产品交给微生物实验室做测试，而在选择受试材料的时候，有可能是低污染风险的材料接受了测试，高污染风险的材料却没有接受过测试。测试必须永远能反映出微生物污染的风险。使微生物测试更加合理化的重要管理手段是减少试验程序。减少原材料监控程度的一个重要方面，就是对供货商的审核及对其提供的确认分析报告与制造地微生物实验室的分析结果是否一致进行评估，这是对原材料、生产环境或药品微生物污染潜在风险的了解。微生物学家需要根据材料的来源、加工程序、水分含量、测试记录以及在处方中怎样使用等方面来做出判断，以决定微生物监测的周期，确保测试实验室能够核实供货商提供的微生物分析结果是有效的。

## 新微生物测试方法的执行

将新的微生物测试方法作为常规测试方法的替代存在一种可能性，可以改善测试结果的质量并缩短产品出厂的循环时间。选择候补测试方法、新概念研究的证据、方法的开发及认证、管理机构的批准以及新的微生物测试方法的实施等都是在利用新技术时需要提到的几个主要的问题。这些新方法在速度、准确性、精确度和特异性等方面都做了很大的改进。

现在使用的微生物测定方法大多数都是那种具有上百年

历史的方法，主要是基于微生物可以在固体或液体培养基上复苏及生长的特性而建立的。事实上这种方法非常有效，而且使用的历史也非常长。然而这种方法经常受到微生物生长速度慢、培养基对所能生长的微生物具有选择性、微生物对培养方法的不同反应的限制。尽管现行的方法有许多局限，但由于微生物学家的保守倾向，因此在接受新的、可能是更加优秀的方法总是比较缓慢。

其中部分原因可能是由于缺乏清晰的指导，来证明此类新方法和已经被管理机构接受的现行方法拥有同样的功能，以及如何对新测试方法使用的设备进行认证。

有许多关于化学方法用于微生物测试的认证指导原则。其中包括美国药典第 1225 章“测定方法的认证”和最近由国际协调会议组织（ICH）出版的《法定方法的认证》。这些出版物在证明新的化学分析方法以及在证明它们与现行的方法具有同样价值方面提供了具体的指导。

在开发现行微生物测试方法使用自动化样品处理、结果判读或数据管理的设备时，由化学分析的指导方针来证明新方法具有相同价值并不难，因为测试原理基本上是相同的。同样的，当新技术依赖于对微生物生长的测定时（如生物培养基的阻抗、ATP 生物发光、其他新陈代谢的变化），也很容易证明新的方法具有同等价值。然而当根据新技术开发的新方法和现行的方法没有直接的联系时（例如，rRNA 扩展以鉴别微生物对生物化学反应或荧光标记的细菌细胞的计数代替琼脂培养基皿的菌落形成单位的计数），要证明具有相同的价值可能需要对认证原则有新的申请，尽管新方法能提供质量更高的结果。我们可以在最近出版的《PDA 技术报告》中找到用来认证新微生物测试方法的原则<sup>[7]</sup>。

为了方便起见，新技术可以分为以生长为基础的技术、以活力为基础的技术、以细胞组成和人工产物为基础的技术以及以核酸为基础的技术四大类。详见表 3。

表 3 新的生物测试方法分类

测试方法	技术示例
基于生长的技术	ATP 生物发光法
	阻抗/电导率法
	疏水网格膜滤过法
基于活力的技术	直接 epifluorescent 滤过
	显微膜激光
	扫描荧光细胞计量术
	荧光流式细胞计量术
基于细胞组成或人工产物的技术	GL 色谱脂肪酸图
	MALDI-TOF 质谱
	荧光抗体技术
	酶联免疫检测
	鲎变形细胞溶解产物-内毒素检测

续表

测试方法	技术示例
基于核酸的技术	核酸探针
	聚合酶链反应-DNA 扩增
	16S rRNA 序列技术自动打印

## 实施以风险控制为目的的微生物测试计划

一种既节约成本又能控制微生物污染的试验计划必须能反映药品受微生物污染的风险。产品处方、制造工艺、包装和产品支持微生物污染（生长）的能力等方面的知识对开发合理的规格和能够反映消费者使用的每一剂药的潜在威胁的监控都是有用的。这种对潜在威胁的重视要求药物微生物学家重点关注那些有较高潜在在微生物污染的产品，以更好地为制药企业和产品最终用户服务。

召回就是当产品违反 FDA 制定的法律时，药品生产企业将已经上市的药品收回或进行纠正。这与 FDA 其他法规，如没收和法院下发禁止令是不同的，召回通常是自愿的。FDA 不能命令企业召回某一产品，除非涉及婴儿处方药、生物制品以及对健康有严重威胁的医疗器械。当有合理理由认定使用或接触某一违法产品将对人的健康带来严重的损害或者导致死亡时，对此类产品的回收称为 I 类召回。当使用或接触某一违法的产品时，它有可能造成暂时的或医学上可逆的危害，或者造成严重健康危害的可能性很小的时候，对此类产品的回收称为 II 类召回。当使用或接触某一违法的产品时，它不太可能对健康带来危害时，对此类产品的回收称为 III 类召回。当管理中心收到 FDA 的地区办公室的《召回报告》时，它需要评估产品对健康带来的危害，并按 I、II、III 类进行分类。由 FDA 各具专长的科学家组成的“特别健康危害评估委员会”来决定分类，在分类时应具体情况具体分析，要考虑到违反规定可能带来的后果。

每年因非无菌药品和非处方药的微生物污染而引起的召回事件平均是六次（表 4）。主要重点是由水传播的革兰氏阴性细菌，洋葱伯克霍尔德菌（9 次），*P. putida*（3 次），铜绿菌（3 次），荧光性假单胞菌（2 次）和皮氏假单胞菌（1 次），这反映了对在液体口服剂型中细菌生长能力的担忧，这种情况下，细菌的生长能力超越了防腐剂的作用。

在本章中，对造成非无菌产品微生物污染的潜在可能性分析提示它们是由以下原因造成的：①制药用水的微生物污染；②使用了微生物数量超标的原材料；③防腐剂失灵，不能为液体产品提供保护；④在生产过程中的微生物污染；⑤在产品有效期内使用和（或）储藏不当。

在过去管理机构的检查中，重点是放在合适的供水系统、恰当的设备管理和恰当的监控计划上的。因此，制造企业在生产过程中没有任何借口使用不合适的水。在大多数情况下，我们都挑选高质量的原材料用于制药。

重点应该放在处方开发过程中的防腐剂上,尤其是通过控制处方的 pH、表面活性剂特性和水活度以优化防腐剂使制剂不适合微生物生长。最近的文献中有关于在配方中测定水活度的应用和微生物监控计划的开发的全面讨论<sup>[9]</sup>。

制剂学家、微生物学家和生产人员参与对不同的生产步骤影响处方中微生物含量的能力做更进一步的判别是有益的。产品在有效期内暴露在高湿度环境中会增大液体、油膏、乳剂或片剂的水活度,促使微生物在产品表面生长,因此,合适的包装和患者恰当地操作药品是相当重要的。

表 4 1991~1998 年由于微生物污染问题而被 FDA 召回的非无菌制剂和 OTC 产品的摘要 (n=46)<sup>[8]</sup>

年份	例数	I 类	II 类	III 类	假单胞菌/%
1998	7	2	3	2	57
1997	5	1	2	2	60
1996	4	1	2	1	75
1995	4	0	3	1	0
1994	8	1	4	3	38
1993	9	0	6	3	44
1992	6	1	5	0	33
1991	3	0	0	3	0
1991~1998	46	6	25	15	38

## 微生物测试实验室的未来发展趋势

药品微生物测试实验室主要有四个方面的趋势:①引进新的微生物检测技术;②按工作站来组织实验室;③使用计算机化的信息管理系统;④将重点从测试转移到防止微生物污染上来。如果现在请微生物学先驱德国的罗伯特高斯来参观一个药品、生物技术或医疗设备企业的常规微生物测试实验室的话,他可以认出大多数技术是在 19 世纪后 30 年开发的,并且那时在他的实验室里使用。

这些方法包括:将细菌固定在玻璃片上,染色,然后用显微镜检查及显微摄影;固体培养基上菌落的生长使用在固体培养基上划线法分离培养细菌;在玻璃培养皿中使用琼脂作为微生物培养基的支架;在固体培养基中进行一系列的稀释和涂布培养,对水中微生物群进行计数;监控空气中的细菌;根据细胞结构和不同的染色来对细菌分组;通过过滤或蒸汽消毒来对微生物培养基进行无菌处理;消毒剂测试;需氧和厌氧孵化。目前在药品质量的微生物测试实验室方面正在形成新的趋势,就是 19 世纪晚期开发的传统的微生物测试技术将被基于生物化学的、荧光细胞计数、核酸的技术所取代。许多公司已开发了使现行的测试方法自动化和微型化的仪器。技术正在快速进步,如荧光激光探测和基于核酸的探测技术。微生物测试的未来将能降低我们对培养方法的依赖,使特定的自动化探测技术商业化,这将使得常规测试时间缩短、质量提高。

微生物实验室的组织越来越以自我管理的工作团队为基础,更广泛地使用以更新的测试技术为基础的工作站。工作站反映了制药企业生产的产品混合物的质量,这将使

实验室的人员调度和实验室内原料和信息的流通更加合理。普通的工作站包括:①样品的收发;②制药用水的监控;③药用成分和非无菌产品的微生物限度确定试验;④防腐剂效力测试;⑤微生物鉴定;⑥环境监控;⑦促进微生物生长;⑧无菌试验;⑨抗生素和维生素的微生物测定;⑩信息管理。

每个测试工作站配有轮值的训练有素的实验室工作人员,与实验室信息管理系统(LIMS)连接的专用测试设备、试剂、培养基、辅助材料附有标准操作程序(SOP)、培训文档、仪器校验和维修保养记录。测试样本经接受、查验后用键盘或条件码扫描输入到信息管理系统并分发到合适的工作站,工作站得到的测试结果经复核后再传输到 LIMS。

总而言之,必须更加增强微生物学家在制药工业中的作用,在本章中突出了有经验的微生物学家参与到产品生命周期的每个阶段的必要性,以保持产品优质、安全、有效。

## 参考文献

1. Current Good Manufacturing Practices in Manufacturing, Processing, Packaging of Drugs. 21 C.F.R. § 211 through § 226.
2. Testing Chapters; Antimicrobial Effectiveness Testing, Ch. 51; Microbial Limit Tests; Ch. 61; Sterility Tests, Ch. 71. U.S.P. 24.
3. Informational Chapters; Microbiological Evaluation of Clean Rooms and Other Controlled Environments, Ch. 1116; Microbiological Attributes of Pharmaceutical Articles, Ch. 1111; Pharmaceutical Dosage Forms, Ch. 1151; Validation of Compendial Methods, Ch. 1225; Water for Pharmaceutical Purposes, Ch. 1231. U.S.P. 24.
4. Eaton, A.; Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Ed.; American Public Health Association, 1998.
5. FDA Draft Guidance for Industry. Stability Testing of Drug Substances and Drug Products; FDA; Washington, DC, June 1998.
6. Pharmaceutical Packaging Integrity. PDA Technical Report No. 27, April 1998.
7. The Evaluation, Validation and Implementation of New Microbiological Testing Methods. PDA Technical Report No. 33, April 2000.
8. The Gold Sheet; FDC Reports, Inc.; Chevy Chase, MD, Jan. 1991.
9. Friedel, R. R.; Cundell, A. M. The Application of Water Activity Measurement to the Microbiological Attributes Testing of Nonsterile OTC Drug Products. Pharm. Fo-

rum 1998, 25 (2), 6087—6090.

# B

## 参考书目

Baird, R. M. Microbial Quality Assurance in Cosmetics, Toiletries and Nonsterile Pharmaceuticals; Taylor and Francis; London, 1996.

Clontz, L. Microbial Limit and Bioburden Tests; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1998.

Denyer, S.; Baird, R. Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals; Ellis Horwood; London, 1990.

Difco Laboratories. Difco Manual, 11th Ed.; Division of Becton Dickinson & Company; Sparks, MD, 1998.

FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed.; AOAC International; 1998.

FDA Guide to Inspections of Microbiological Quality Control

Laboratories, July 1993.

Murray, P. R. Manual of Clinical Microbiology; ASM Press; Washington, DC, 1995.

Olson, W. P. Automated Microbial Identification and Quantation; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1998.

Russell, A. D.; Hugo, W. B.; Ayliffe, G. A. J. Principles and Practices of Disinfection, Preservation and Sterilization, 3<sup>rd</sup> Ed.; Blackwell Science Ltd.; Oxford, U. K., 1999.

Willig, S. H.; Tuckerman, M. M.; Hitchings, W. S. Good Manufacturing Practices for Pharmaceutiucals; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1982.

(鲍英译)

# 层流设备的应用和操作

Gregory F. Peters

Lab Safety Corporation, Des Plaines, Illinois, U. S. A.

C

## 引言

近几年,保护制药和配药过程免于空气污染的要求越来越多,也越来越复杂。因为活的和死的致病污染物可以通过注射药物很容易地进入患者体内,所以必须严格控制注射药物生产和配药过程中的无菌及纯度。层流(laminar airflow, LAF)设备作为无菌操作中的工程控制装备得到广泛使用,它使生产环境免受微生物、热原、药物残留及其他物质通过空气和表面产生的污染,这些污染会导致血管内感染、热原反应或外周脉管系统堵塞。随着中小规模仿制药的生产、药物再分装、医院药房和家庭保健治疗的静注配液、配药工业的发展,洁净空间的设计和管理已成为日益增长的中层和生产线管理人员的直接职责。因此,必须了解层流理论、无菌操作和洁净空间管理的知识,并将其整合到洁净空间的概念、建造和完全有效地运行中,并且要慎重考虑选择或留任洁净空间的管理和操作人员。

## 污染控制

所有产品都容易受到环境中无处不在的大量雾化污染物的污染,这些污染物包括微生物、致热粉尘、灰尘、花粉、烟雾、碳氢化合物等(图1)。对于注射药物,即使含有微量的上述污染物,也会给患者带来危险,因此必须采取特殊的方法去除成品中的污染物。在防止环境的污染时,谨慎的规划是必须的,因为在常规的药学操作中,职业人员将不可避免地要与有害物质接触。无菌操作的主要目的是控制和消除活的污染物,这些污染物数目众多、种类繁多,通常由细菌、真菌和病毒组成。病毒暴露在空气中时寿命很短,它们需要宿主体系来保持活力并进行复制,除了排除其带菌体或转运机制,它们并不是主要的隐忧。无菌操作是为了排除细菌、真菌及其孢子和分解产物而设计的。这些污染物大多经空气传播,且在大气中随处可见。然而,无菌操作中最令人担忧的污染却是由操作人员及其他操作注射产品的人员产生的内源性微生物。通过内源性微生物群的正常“脱落”和由说话、笑或打喷嚏的无意识途径产生微小飞沫,这些都很容易成烟雾状散开并进入气流中。

皮肤<sup>①</sup>上会产生大量内源性污染物<sup>[1]</sup>,并有可能在操作过程中带入无菌操作区,比如容器、仪器、白大褂和其他物质的表面。

水传播污染物同样可以通过已经污染的清洁剂或者不正确的清洗和消毒操作引入。所有严重的微生物污染通常发生在工作台表面、手套和配料物质与被污染的物体接触之后。注射药品还必须除去致热和非致热粉尘,因为微量粉尘就可能引起急性炎症或注射部位脓肿,并诱发致命的热原反应。另外,已有证据证明纤维栓子的长期危害,当患者接受被其污染的混合静脉注射剂时,会产生肺脑肉芽瘤、狭窄和微循环阻塞,以及肺脑阴影和神经方面的后遗症<sup>[2,3]</sup>。还有,因生产线清洁不正确,留在无菌操作区的药物残留对不需服用该药的患者也是一大威胁。

## 历史

LAF是一种从高效粒子空气(high efficiency particulate air, HEPA)过滤器发展而成的“分株式技术”,最先于20世纪四五十年代应用于美国陆军化学公司、海军研究实验室和原子能委员会。作为绝对过滤器,HEPA过滤器在核工业中得到进一步发展,被用来彻底去除核设施中极度危险的微小空气粒子<sup>②</sup>。在50年代晚期,层流净化台(laminar flow clean bench, LFCB)的大量生产及其与HEPA过滤器的结合,使得医院药房能够构建小型密闭的配药环境,具备无菌空气和消毒并抑菌的操作表面,从而制备少量个人和患者特需的无菌药品。

药厂在批量生产质量可控的注射药品时,开始更大规模使用绝对过滤器,作为维护巨大的、谨慎控制的洁净区的主要工程装备。LAF在药厂的应用中,以平行或圆柱状气流(误称为层流)直接供给生产线和确定的非紊流进出口之间的临界操作面<sup>③</sup>。除了一般空间内常规供给的紊流气流之外,高度控制的层流由保持室内空气平衡的终端过滤扩散器,供给到临界操作面。通过这种方法,所有临界区域和支持区域都达到了“梯度”管理。

在20世纪70年代中期,随着LAF洁净空间的改进,大量历史工艺质量数据的积累,统计过程控制(SPC)的改进以及工业操作标准的出现<sup>[4]</sup>,使更多地控制生产过程中的空气质量成为可能。1979年,使用LFCB的药房中调

① 成年人平均每分钟脱落的表皮颗粒带有25 000~50 000个葡萄球菌,五个人中有一个人是金黄色葡萄球菌的携带者和活体生产者,该菌会导致中毒性休克综合征——一种致死率为50%~90%的菌血症。

② 99.97%的微粒小于或大于0.3μm。

③ 层流被定义为一种液态流,其速度、压力、温度和其他性质都有可辨别的分区(板状或层状构造),然而平流的性质在其垂直面、水平面和经度上都是均一的。

配抗肿瘤药物的工作人员表示了对自身安全的担忧,之后的研究也证实了这些工作人员的健康可能存在危险<sup>[5]</sup>。70年代晚期,肿瘤学/血液学药学中引入并广泛使用了二级层流生物安全工作柜(BSC),在80年代末几乎达到全球化使用。90年代晚期的研究表明,虽然药学领域已经广泛安装启用二级BSC隔离技术,工作场所依旧存在着1979年报道的潜在健康危险<sup>[6]</sup>。制药工业一些部门快速反应,强烈推荐在手套箱或半套装构造中使用三级BSC的屏障隔离器(有时被称作“屏障罩”),替代“开放”的二级单元,因为药房使用的二级单元没有起到保护工作人员和环境的作用。

然而,这一建议并不是建立在对用于药房操作的二级设计的恰当而谨慎的工程学错误分析(failure analysis, FA)的基础上,没有对操作进行合理的评估并找出这些错误的原因所在。直到本章的撰写,仍然没有任何针对这些FA进行的系统和科学的可行性研究、验证和监控方案,或者操作指标,从而进行合适的、正确的新式三级隔离器设计。需要注明的是,不是所有的“屏障隔离器”或“手套箱”都是三级BSC。在药学人员操作有害物质的工程管理中,为了防止任何类型的BSC出现重复故障,这些措施是绝对必要的,静注药房已成为存在严重职业性风险的环境。

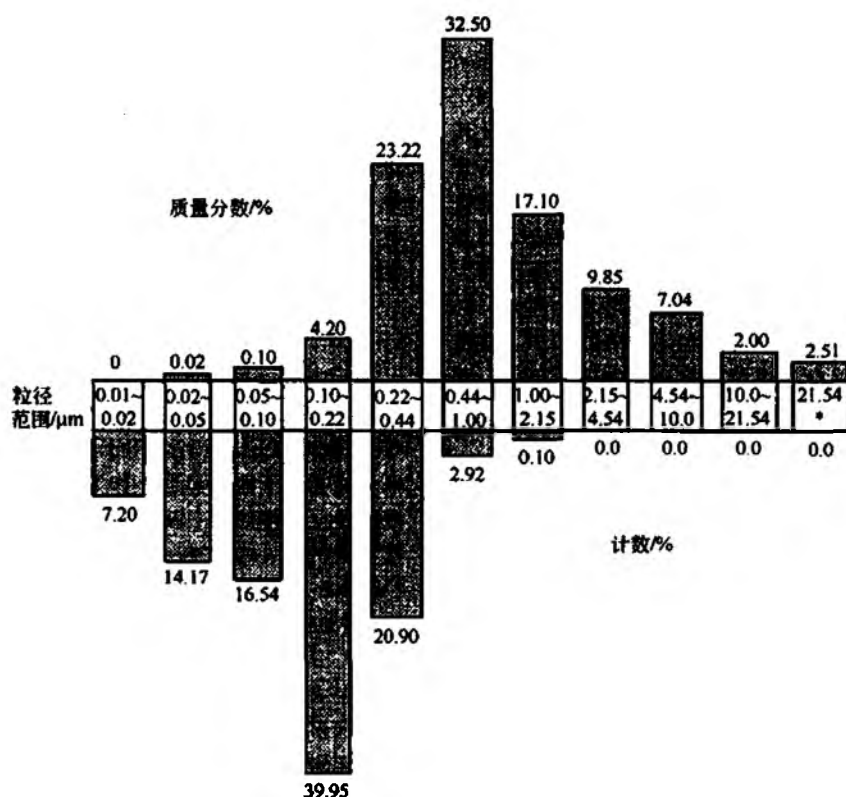


图1 正常大气中微粒的大小和质量分数的分布

## HEPA 过滤器

所有 LAF 设备共同的基本组件就是 HEPA 过滤器。

### 1. 构造

HEPA 过滤器一般由硼硅微型纤维构成,通过类似造纸的方法形成扁平的层片(图2)。这些层片经褶皱后总过滤面积增加,以便把过滤器的静压差降到最低,达到给定气流技术指标的预设值<sup>①</sup>。这些褶皱被锯齿状铝制挡板或者缝合的纤维条带分隔开,指引气流通过过滤器。褶皱层

片和挡板的组合促使上游过滤区与气流的接触面积达到最大,也被称为过滤介质。制成预定大小后,它被安装到由耐火粒子板、铝或者不锈钢制成的外框中。外框与介质的交界处被永久性胶着或密封,以保证防漏。外框还配备了一系列配套的密封氟丁橡胶垫圈或其他合适的密封材料,以保证过滤器在气密条件下安装到空气处理系统中。

### 2. 过滤效率

随着 HEPA 过滤器的生产和测试技术的完善,以及超小粒子空气(ultra low particulate air, ULPA)过滤器的发

① 一般 0.50~1.2 in. 水柱(WC)或水标尺(WG)。



展, 绝对过滤截留效率比 99.97% 增加了两个数量级。对直径小于或大于  $0.3\mu\text{m}$  的粒子, HEPA 过滤效率在 99.97%~99.99%, ULPA 的效率在 99.9999% 以上 (图 3)。在制药和药房调配中应用的 HEPA 过滤器, 其效率很少超过 99.99%。换一种说法就是, HEPA 过滤器可以在每 1 000 000 个颗粒中俘获并截留 999 700~999 900 个直径小于或大于  $0.3\mu\text{m}$  的颗粒。

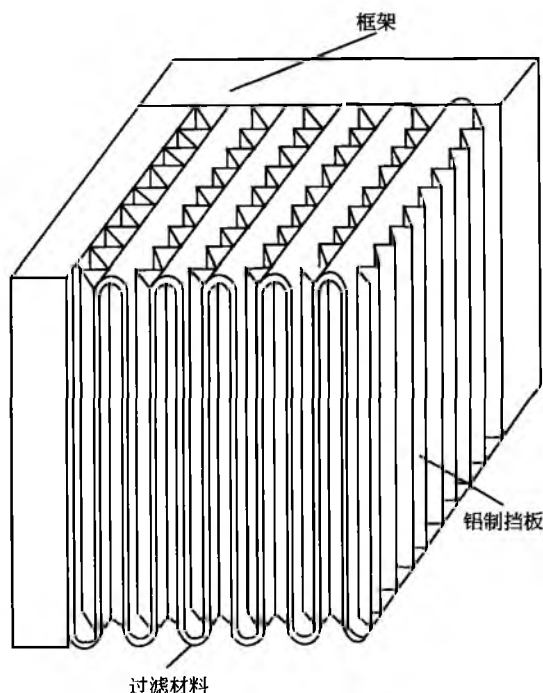


图2 HEPA过滤器横切面的褶皱结构

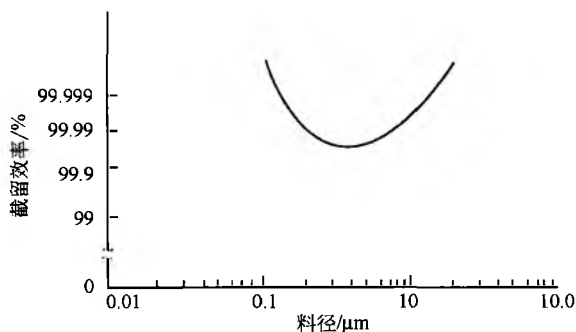


图3 HEPA理论过滤收集效率

### 3. 过滤机制

HEPA 过滤介质收集悬浮微粒的主要过滤机制有三种 (图 4):

- 惯性撞击, 即颗粒的惯性导致其离开气流而撞上纤维;
- 截留, 取决于颗粒-纤维大小关系的屏蔽效应;
- 扩散, 分子轰击造成微小颗粒的布朗运动扩散<sup>[7]</sup>。

也有一些悬浮颗粒是通过其他过滤机制收集的, 比如沉降和静电吸引力, 但大多数粒子是通过以上三种机制从

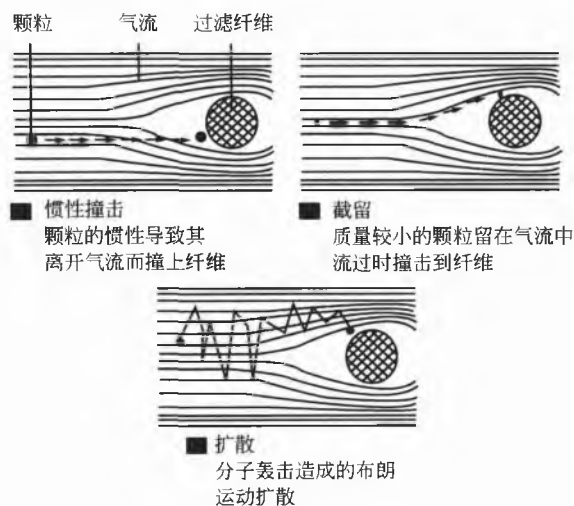


图4 空气过滤理论的粒子收集机理

气流中去除的。

### 4. 运输、存储和装卸

HEPA 过滤器非常易碎, 应当采用精密仪器的存储和装卸方法。负责接收和装卸 HEPA 过滤器的工作人员需要接受正确的装卸技巧训练。在接收之前, 需对所有新到的 HEPA 过滤器进行外观检查, 比如由于装卸不当造成的明显损伤和运输文件中详细记载的所有损伤。

### 5. 过滤性能证明

HEPA 的单个滤器效率由滤架和过滤介质挑战试验决定, 通常包括“冷沸腾”、邻苯二甲酸二异辛酯 (DOP) 或类似物的多分散悬浮微粒<sup>[8]</sup>, 这些物质被置入滤器上游充气增压的一边, 以保证滤器后的试验悬浮微粒在额定气流中平均分布。

遵循验证制造商提供的可接受气流速度 (以线性英尺每分钟或米每秒表示) 之后, 用悬浮微粒分光计<sup>[4]</sup>或光学粒子计数器<sup>[9]</sup>仔细扫描整个过滤介质和外框, 测量通过滤器的试验悬浮微粒的渗透百分比来测定泄漏量 (以上游充满悬浮微粒的浓度百分比计)。试验悬浮微粒的渗透量等于或超过上游浓度的 0.01% 时, 就认为泄漏, 需要修复。泄漏修复必须使用室温硬化的硅酮填料防漏, 这种材料使用方便, 而且表现出长久的稳定性和耐变形性。过滤介质的修复必须依照文献中的特定方法<sup>[10]</sup>。每台机器修复“块”的长度或宽度都不能超过 1.5 in (1in=2.54cm), 总修复面积不能超过滤器总面积的 3%。在操作中以及任何时候, 所有物体 (药物残留或碎屑) 都不能和 HEPA 过滤器接触。

## LAF 作为屏障技术

LAF 长久以来都被作为制药和药房产品无菌操作中控制空气传播污染物的首选方法。作为非紊流或单向气流, LAF 一般被定义为“HEPA 滤过的空气, 拥有平行层流,

在一洁净区域中单向流动”<sup>[4]</sup>。技术上,将 LAF 定义为无肉眼可见波动的液态气流,一般发生于雷诺数<sup>①</sup>小于 2000 时。工业标准要求总气流中 80% 或更多的气流表现出这一性质,以符合 LAF 的定义<sup>[11]</sup>。在 LFCB 和 BSC 临界工作面和运作的洁净室中<sup>[4,11]</sup>制造“初气流”<sup>②</sup>,以维持最严格的空气洁净等级<sup>③</sup><sup>[4]</sup>,LAF 是必不可少的。值得一提的是,术语“层流”和“100 级”是不可互换的;LAF 初气流结合有效的 HEPA 过滤可以产生近似洁净度 1 级的空气,几乎比 100 级要高两个数量级。100 级非层流在临界工作区中不构成初气流,在要求或指定 LAF 的应用中不能代替。

## 1. 常规气流

常规气流(也称紊流或非单向气流)与 HEPA 过滤器结合,置于管道中,或作为室内终端过滤组件(TFM,图 5)。常规气流经常与 LAF 混淆,但两者定义却大相径庭,常规气流拥有多通道循环的性质或非平行气流,或两者皆有。这种类型的气流无法产生初气流,一般用于以下两种情况的二次或“缓冲”过滤:维持那些拥有层流装置的加工或配料空间中主要临界工作面的状态;确保其他的加工或后备区域达到指定的空气洁净度。常规气流系统只要设计合理,还是能够有效地维持洁净室的一般空气洁净度<sup>④</sup><sup>[4,11]</sup>。

### 1.1 优势

设置足够多的过程控制,并在受过训练的工作人员的合理使用下,LAF 体系可以提供可靠的屏障,阻止那些可测的活的或死的固体颗粒污染物破坏无菌操作环境。LFCB、BSC、暖气、通风和空调装置也容易验证。这些装置一般都是长时间以相同输出质量持续使用,容易维护和测试。

### 1.2 局限

任何关于 LAF 设备的讨论必须综合考虑无菌技术和无菌操作。LAF 经常被依赖性认为是绝对可靠的过程支持,事实上,它只是运动迟缓的无悬浮微粒的空气<sup>⑤</sup><sup>[4]</sup>的一层脆弱的保护外壳,加工原料的不当放置、不规范的生产和工作人员的操作、不适当的无菌技术或 HAVC 组件的维护失败都会影响其效果。尽管滑动层流本身是不含颗粒的,但它却无法清除颗粒、无菌区中其他表面存在的污染物、由物料制备或处理不当引入无菌区的污染物、在无菌区操作和储存物料引入的污染物。LAF 并不是适当的操作

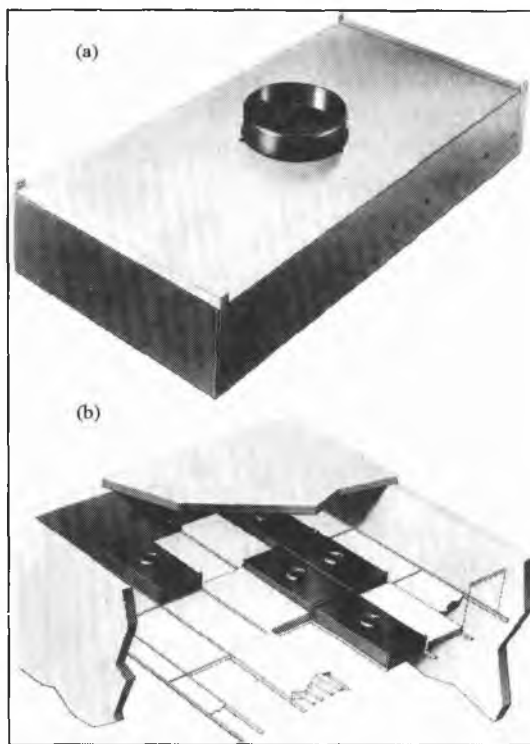


图 5 一体化的终端 HEPA 过滤模块 (a) 和常规气流应用中 TFM 在 T 字形顶板中的排列 (b)

方法和无菌技术的替代品。对任何 LAF 系统过度信任的同时,绝不可忽视加工原料适当的预清洗和分类以及员工的选拔、培训和资格认证<sup>⑥</sup><sup>[12]</sup>,有效的日常清扫和保养操作<sup>[13]</sup>,无菌工艺的监控和审核方法<sup>⑦</sup>。否则,将会导致无菌工艺的失败和危害产品的完整性。另外,BSC 及其相关系统的不当使用可能会导致废气的危害,造成操作人员和环境的累积污染。

### 1.3 操作程序

尽管每种型号的 LAFD 都有特定的操作程序,但以下几条原则适用于所有的 LAFD<sup>[9]</sup>。

清洗和准备 LFCB:在无菌操作开始之前,LFCB 需要开机预热至少 30min。除了滤器保护屏障,工作区所有可及表面先要用低残留、水溶性消毒清洁剂清洗和消毒(千万

① “雷诺数”是管状物中惯性力与黏性力之比。

② “初气流”是层流环境中直接由 HEPA 过滤器流出的连续空气。

③ “……严格的空气洁净度……”即 10~100 级 (F.S. 209e); C、D 和 E 级 (British Standard 5295); 4~5 级 (EN ISO); A~B 级 (EC)。

④ “……一般的空气洁净度……”即 1000~1000 000 级 (F.S. 209e); F~K 级 (B.S. 5295); 6~8 级 (EN ISO); C~D 级 (EC)。

⑤ 畅通的工作场所出口处的气流速度应该保持在 90LFPM 左右,在穿越整个出口的过程中会有 ±20% 的差异。

⑥ 包括:①人员选拔和筛选标准;②正式的培训计划,包括一段时间的监督生产和临床经验,最后汇总在推荐信中,由管理者确认  
③人员认证方法,包括设置了及格线的笔试和无菌技术的实践评估,考查候选人员如何利用无菌的微生物生长培养基,模拟所有实际的操作过程中的操作步骤。

⑦ LAF 系统和其他支持无菌过程的工程学管理(过程审核)的质量保证检测和换发新证,与质量控制、以产品各项指标(鉴别、纯度、无菌和无热原测试)来验证产品性能的操作无关(产品审核)。

不要家用漂白剂或者其他次氯酸盐溶剂清洗不锈钢表面), 然后用 70% 的乙醇或异丙醇从机箱的背部往前、纵向、均匀地喷洒在设施表面, 晾干<sup>[14]</sup> (水溶性清洁剂和乙醇的组合拥有最广谱的抗菌活力, 对于清洗过程中回收表面残留也有最广的表面活性剂溶解能力)。

BSC: BSC 需要连续工作来抑制有害物质。除了 HEPA 滤器保护屏障, 工作区所有内部表面采用 LFCB 的方法, 按适当的次序清洗和消毒, 确保操作者服装免受清洗过程中的污染和清洁剂残留。这同样可防止药物残留转移到大环境中<sup>[14]</sup>。

#### 1.4 分类

工作表面干了之后, LAFD 的操作从所有需要进入无菌工作区物品的分类开始<sup>[14]</sup>。这包括:

- 集中必需的工作物品。药物组分、注射器、消毒液管和稀释剂, 配药和排气设备, 抹布, 成品容器等。
- 准备。在 10 万级的环境中, 所有要进入无菌区的工作物品需用 70% 的乙醇或异丙醇喷剂消毒, 擦拭所有的容器, 仔细地去除那些没有外部封套的容器的肉眼可见的污染物和垃圾, 去除有外部封套的容器的封套, 将所有东西都安放在已消毒的不锈钢台面上。最好使用靠近 LAFD 的手推车或托盘装载进入无菌工作区的物品。诸如纸、标签和书写工具等物品不得带入工作区。

#### 1.5 无菌操作

在把工作物品带入 LAFD 之前, 操作人员带了手套的手必须彻底清洗, 冲去手套外的干粉润滑剂, 并喷上 70% 的乙醇消毒, 在层流气流中晾干。然后才可以把工作物品带入工作区, 开始无菌操作。操作人员的手在层流中要慢慢插入、移开, 尽量避免逆流和交叉流对工作区的污染。工作物品应该按照操作顺序, 从左到右或从右到左排列。这样, 不间断的初气流可以一直持续供给到所有物品的临界面。如果操作人员必须离开工作区, 那么再次进入工作区前, 他或她戴手套的手必须用 70% 的乙醇或异丙醇消毒。这一操作只需很少的时间, 却可以把内源性的和残留的环境菌落对工作区的污染降到最低。为此, 乙醇喷瓶或其他合适的分装器应该放在工作区出口处, 乙醇需过滤, 分装器每次用完需消毒。良好的无菌操作技术对保证配制产品的无菌十分必要, 所有在 LAFD 工作的药房人员都推荐合适的外科手术手套、口罩、实验室白大褂 (或手臂屏障) 和帽子<sup>[1,14]</sup>。

### 2. LFCB

LFCB 是最古老和最基本的 LAFD, 通常被称为“座舱盖”——一个被用 HEPA 过滤器过滤的空气环绕的工作区 (图 6)。

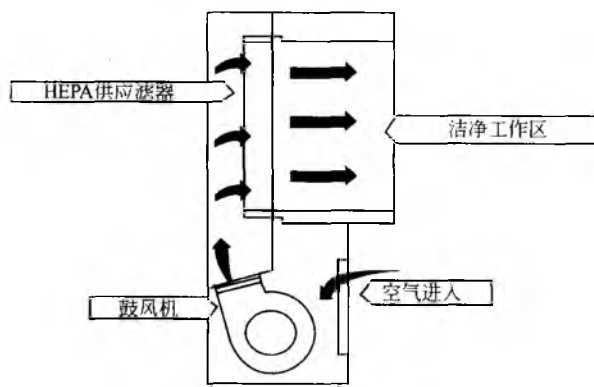


图 6 LFCB 气流简图

它仅仅通过俘获室内空气, 使之通过 HEPA 过滤器并使过滤空气水平或垂直地均匀恒速穿过工作面到达操作人员, 以此来保护产品。

#### 2.1 缺陷

LFCB 在细胞毒、放射活性、微生物或其他有害物质的操作中不能使用, 操作人员可能会导致这些有害物质雾化或气化。因此, 相关操作必须在层流 BSC 中完成, 比如抗肿瘤剂、糜烂剂的改造和操作, 抗生素、抗病毒和疫苗制剂的大量改造等。

#### 2.2 工作区内物品的放置

带入 LFCB 的工作物品, 当其所有面都暴露在层流中时, 必须放置在装置内距开放端至少三倍该物体直径的位置处; 当操作人员在任一端工作或物体只有一面暴露在层流中时, 距离必须增至六倍直径<sup>[14]</sup>。这个方法可以抵抗逆流污染, 避免其对无菌区的危害。在层流中引入任何大型物体 (高速自动混匀机、水浴、大玻璃坛等)、障碍物或复杂的过程同样会诱发逆流污染, 必须验证气流的内聚力并排除过程中的逆流和交叉气流污染。这可以通过可视示踪物完成, 比如烟雾棒或其他烟雾生成装置, 在临界工作面上游和 LFCB 开放端制造足够的烟雾, 以便在工艺验证或确认中对气流行为进行目视观察。操作必须在工作台面的开放端 6 in 以内进行。尽管层流修复技术有所改进, 但层流移动缓慢<sup>①</sup>, 在其装置的选位、操作和维护中必须小心。

#### 2.3 位置和性能测试

LFCB 必须位于不通风或没有其他稳定或间断气流干扰的区域, 避免逆流效应对层流的影响<sup>②</sup>。每 6 个月由合格的检查者对 LFCB 进行性能测试, 至少每 60 天进行维修或预滤器的更换。

① 一般 90LFPM $\pm$ 20%, 或由使用者详细说明。

② “逆流污染”是指未过滤的室内空气逆流进入 LAFD 工作区。

## C

## 2.4 应用

在医院、诊所和医疗保健疗养院的药房中，LFCB 为以下几种操作提供无菌条件：配制大输液如静脉混合物或高营养液；配制小输液如背驮式、注射器或其他小于 250mL 的注射产品；无害物质的无菌操作。

在工业中，LFCB 应用于小批量的无菌灌装操作、无害物质的一般操作和分离以及质量保证/质量控制（QA/QC）中的无菌检查。

## 3. 层流 BSC

在过去的四五十年里，药学研究和临床研究推动了药品和其他有害物质以及那些短期和长期都对操作人员有害的物质的生产、处理和配制的发展<sup>[15]</sup>。为了保护产品的纯

度和无菌，首先必须保护操作人员和环境。这一需要导致层流 BSC 在众多生物学、放射性、细胞毒、致敏和抗生素药品的生产和配制中得到广泛使用。任何 BSC 的准备、操作和清洁中必须跟进适当的隔离和屏障技术。尽管 LFCB 和 BSC 都属于 LAFD，但是在培训操作人员时必须明确指出两者的区别。作为“座舱盖”，两者的使用和维护模式相似，并无很大的区别，但每种型号的 LAFD 由于设计不同（图 7）有其独特的气流模式、隔离特性和操作要求。操作人员必须认识到在 BSC 中使用隔离和屏障技术的重要性，不仅仅是防护突然明显的污染，更重要的是阻挡那些经常接触可能会引起长期身体危害的微量残留污染物<sup>[15,16]</sup>。实践证明，当前的药学实践和污染控制操作技术还不足以在配药和服药的所有阶段控制有害物质，为了保护操作人员，必须加紧整个药学范围的研究，尽快出台一套标准化的补救训练计划<sup>[16,17]</sup>。

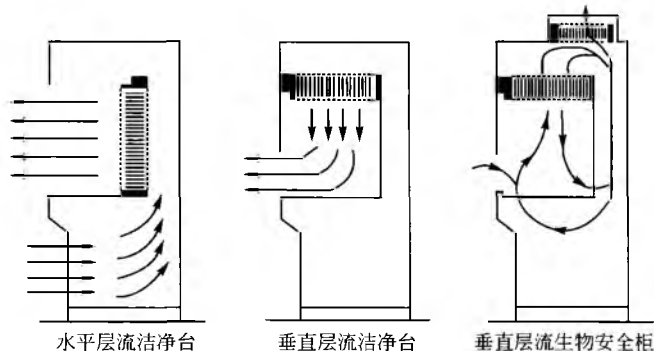


图 7 LFCB 的水平和垂直气流模式及 BSC 的垂直层流

## 3.1 分类

BSC 分三级：一级和二级用于中度危险等级；三级用于高度危险等级。危险等级是制药和调配操作的指南，它建立在对工作人员的等级、隔离模型和使用生物制剂的操作（这类设备本来就是为此设计的）中遇到的产品/人员的防护因素合理外推上。

## 3.2 药学操作中的 BSC

尽管 BSC 不是特别为制药或药房调配设计的，但却可以对有害悬浮微粒的管理做出合理的推论，以证明 BSC 在这些操作中的必要性。例如，1979 年事件之后的广泛研究<sup>[5]</sup>表明药房和护理人员在 LFCB 中配药和日常给药的过程中受到了抗肿瘤剂的职业性暴露。药学界对这些发现做出谨慎的回应，他们基于这些推论的建议促使药房广泛使用二级 BSC。二级 BSC 的设计很快就完成了，没有相关的可行性研究、验证和监控方案，或标准化的操作、清洗和在线清洁程序，导致不同机构中该设备的安装和操作有很大差异，效果自然也大相径庭。

最近的研究表明药房工作人员对这些物质的职业性暴露并没有减弱，由此可以得出这样的推论——二级系统还不足以控制环境污染<sup>[6]</sup>。这些发现再次激励了卖主和药学

各界，进一步推动了三级 BSC 或屏障隔离器的使用。假设这是一个所谓的“封闭系统”，能可靠地阻止危险试剂向环境转移，从而防止工作人员暴露。整个药学界再次掀起了推广隔离技术的热潮，但却并没有寻找二级系统“失败”的原因并对此进行工程学研究，也没有出台三级系统执行和操作的标准化程序。必须指出的是，二级系统在管理微生物和毒理学操作中的微粒和悬浮微粒污染是完全有效的，它们当初也正是为此而设计的。这些污染包括很多危险试剂，但是沿用了几十年之久严格的操作和管理技术仍然对它们有效。至今没有任何来自于这些工业的关于二级系统应用失败的报道，这意味着并不是系统本身的设计或者应用的瑕疵导致了职业性暴露没有减弱，由药学和护理人员造成的设备不当使用、不规范的操作方法和产品转移以及清洗技术才是罪魁祸首<sup>[17]</sup>。本章认为，没有足够的论据支持整个药学范围补救性地将二级系统更新为三级 BSC 或屏障隔离器。药学界与其过早弃用一个有效且功能齐全的隔离系统，取而代之一个更为复杂且昂贵的设计，不如去寻找并改正这些人员暴露的原因。在升级这些工程控制之前，应进行对照研究，以确定在实施仔细设计的培训计划、隔离程序、废气处理技术前后人员暴露的性质和程度的变化。

在科学地确定了二级技术在提供操作者和环境必须的保护方面的不足之后，必须仔细评估三级 BSC 和屏障隔离

器系统在这方面的应用。这些评估应该系统地包括所有与“手套箱”或其他封闭系统有关的性能、操作和维护因素，比如因手套和上衣引起的麻烦及灵活性下降引起的低生产力、有效清洗的困难导致的产品残留和交叉污染增加、100级洁净度紊流供给气流的较差的产品保护特性、低产量、配料时间延长和错误增加以及三级设计中可能会限制产品保护能力的因素。

### 3.3 适应性

在为任何制药或药房调配操作选择 BSC 之前，首先应由一位合格的工艺工程师、安全官员或工业卫生学家评价所有危险，确保该设备满足了职业安全和工艺要求。

一级 BSC：一级 BSC 是一个开放式的隔离装置，适用于涉及对使用者和环境低或中度危险的试剂的工作，需要限制但无须产品保护或隔离。一级 BSC 的机柜保护了操作者，受控的恒定气流不断进入工作区域并离开操作者，阻止了悬浮微粒从前端开放处逃逸。它在制造业中的应用有限，也没有任何它在当前药学实践中的应用报道。

二级 BSC：二级 BSC（图 8）是药品生产和药房调配操作中使用最普遍的 BSC，能够提供产品、工作人员和环境保护。二级 BSC 有几种亚型，根据机柜通风设计分类<sup>[18]</sup>（表 1）。二级 BSC 是医院和家庭保健药房中使用最广泛的，它的特点是有一个前开放入口，小心维持进气流供机柜内气体交换；整个工作区内有 HEPA 滤过的垂直层流以及 HEPA 滤过的废气。尽管 LAF 的速度和模式、HEPA 过滤器的大小和位置、换气率和机柜排气方法会有很大差异，但所有二级机柜都有垂直层流和前端开放入口（图 7）。

表 1 BSC 机柜的通风

二级（型号）	机柜空气特性	空气再循环率/%
A	30%排回室内	70
B3	30%输送至室外	70
B1	70%输送至室外	30
B2	100%输送至室外	0

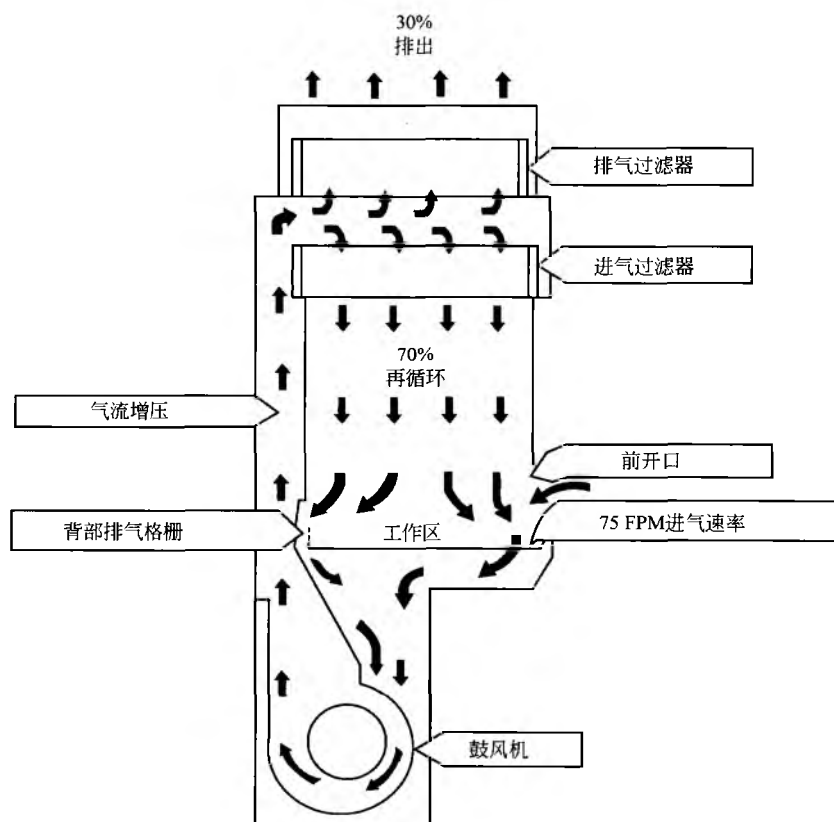


图 8 二级层流 BSC (A) 的气流模式

三级 BSC：三级 BSC（图 9）提供了最高级别的员工、产品和环境的保护，免受高危险的微生物和有毒试剂的侵害。它通常用于药品生产操作中涉及高危试剂的称量、稀释和大量悬浮微粒的产生，以及处理那些缓慢或迅速汽化

的污染物。这一类型的层流装置提供最大限度的隔离和产品保护屏障，一般只用于极度危险的暴露或产品敏感度极高的场合。

三级 BSC 拥有气密性外壳，利用全部空气更换通风来

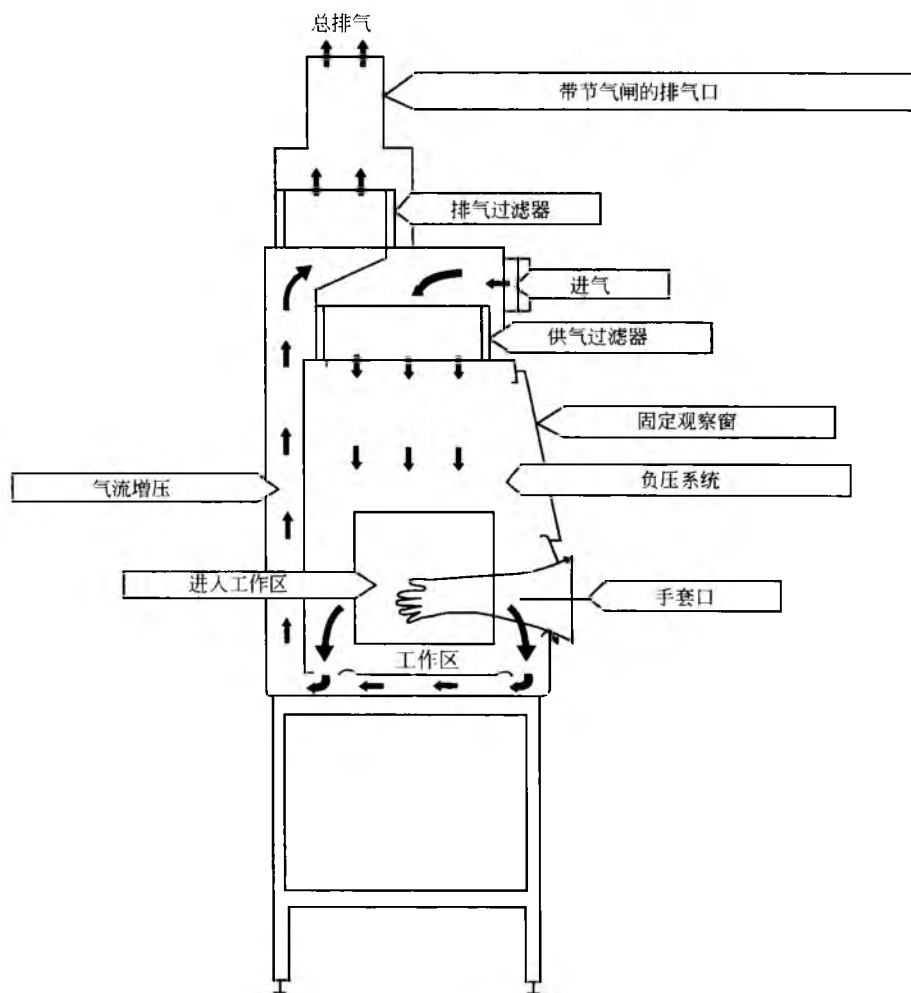


图9 三级层流 BSC 的气流模式

保护工作人员免受机柜内产品的暴露，保护产品免受周围的污染物污染，保护环境免受潜在危险物质的释放影响。三级 BSC 用于需要对危险试剂进行绝对限制的场所，通常会配备气密性的手套窗口和全手臂长的乳胶、氯丁橡胶、PVC、聚氨酯或多层聚合物手套<sup>[19]</sup>。

### 3.4 操作步骤

除了清洗所有易接触的工作区表面，二级 BSC 的工作台面上的托盘下的区域也应彻底清洗，且清洗频率和其他使用者易接触的工作表面一样，这对防止有潜在危害的产品

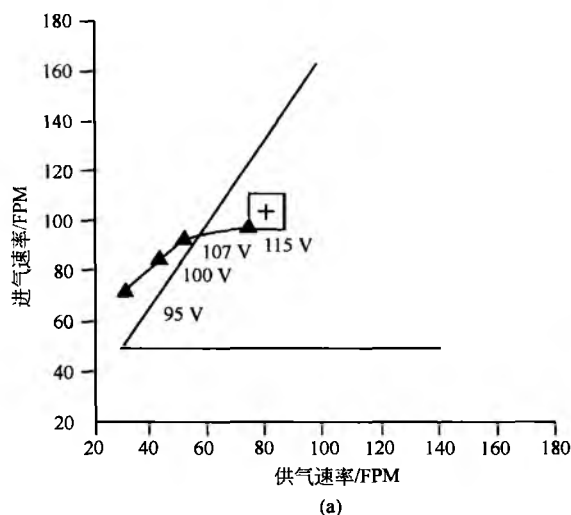
累积残留特别重要。清洗和消毒中使用的所有物品应被视为有毒废弃物，依照国家和当地的条例处理。工作表面完全干了之后，操作便以分类所有需要带入无菌工作区的工作物品开始。工作物品随后转移至工作区，开始无菌操作。工作人员只可以在工作表面进行操作，注意不要在通风格栅附近处理或储存物品。无菌区的所有物品临界面应一直维持初气流；必须防止由经过无菌区临界口和三角区内任何物体引起的对初气流的垂直流动的干扰。良好的无菌技术对保持调配产品的无菌十分必要<sup>①[14]</sup>，另外推荐所有 BSC 药房操作人员使用外科手术手套、口罩、实验室白大

① 在 BSC 调配细胞毒和抗生素试剂的工作人员有时不再强调良好的无菌技术的重要性，因为他们认为这些物质只是自己有毒或对任何微生物污染有杀菌作用。必须注意的是，很多微生物的有机体在细胞毒化合物中仍然有活力并可以复制；另外，没有一种抗生素有广谱抗菌的作用。因此，在 LAF 环境中所有操作必须按照适当的无菌操作进行。

褂（或手臂屏障物）和帽子<sup>①</sup>。

### 3.5 位置

BSC 的位置、操作和维护应该仔细计划。和 LFCB 类似，BSC 必须位于无稳定或间断气流干扰的区域，避免逆流效应对层流的影响<sup>②</sup>。BSC 应与合适的电源连接，该电源的波动要尽可能小。电压变化对机柜性能的影响非常显



著 [图 10 (a)]，会引起进气和供气的速度变化，足以导致装置性能不合格 [图 10 (b)]，从而使保护工作人员和产品的设计特色失效（表 2）。建议由合格的检察员至少每 6 个月进行 BSC 的性能测试，装置每次改变位置后也必须进行测试。装置在移动或再过滤之前，建议进行适当的表面去污<sup>③</sup>。

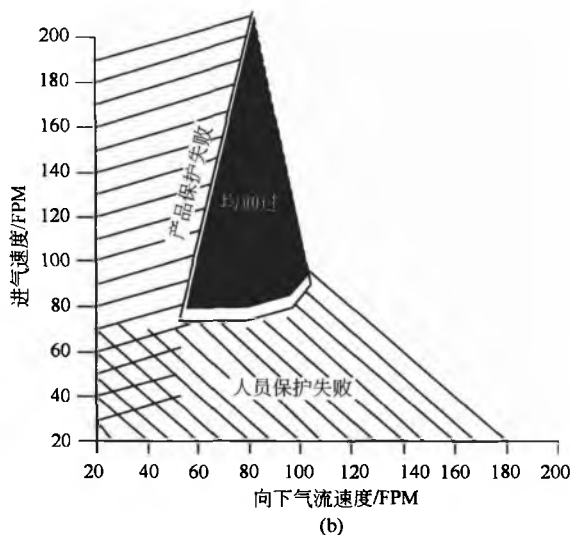


图 10 电压变化对柜体性能的影响 (a) 和二级 BSC 在不同气流设定下进行微生物颗粒性能测试的结果 (b)  
+ 正常设定点；——性能区；▲—▲气流平衡

表 2 不同 BSC 设计的保护

设计	人员	产品	环境
洁净台		●	
一级	●		●
二级			
A	●	●	●
B1	●	●	●
B2	●	●	●
B3	●	●	●
三级	●	f (设计) <sup>1)</sup>	●

1) 设计的函数。

### 3.6 应用

BSC 为医院、诊所和家庭保健药房调配 LVP、SVP、

抗肿瘤剂、抗生素、抗病毒药物和疫苗提供了无菌区，直接暴露对操作者和环境可能有危险。大多数医院和诊所的药房操作都依赖二级 BSC (B3)，该 BSC 的专用 HVAC 排气装置是非循环利用的，且直接与 BSC 相连接<sup>④</sup>。尽管在生物悬浮微粒的隔离中不要求二级 BSC (A) 直接与 HVAC 排气装置直接相连，仍然建议所有药品生产或药房调剂中采取直接相连。一级 BSC 几乎从未在药房调剂操作中使用，在综合评价所有二级 FA 后，三级 BSC 技术目前正在为其今后在药房调剂中的应用接受评估，得出三级系统在这些操作中的可行性研究的结论。

工业界，BSC 用于小批量的无菌操作、处理（称量和倾倒）、危险品的隔离以及 QA/QC 测试。药品生产操作中所有级别的 BSC 都有各自的用武之地。

① 这些都是基础屏障，已证明在接近临界区的封闭工作中可以帮助储留较大的内源性污染物，同样重要的是，这些屏障保护操作者避免了与有潜在危险的物质的直接接触，必须依照已制定的指南使用（参见“管理决议”）

② “逆流污染”是指未过滤的室内空气逆流进入 LAFD 工作区。

③ 尽管一般不要求对 BSC 进行微生物去污，除了在微生物试剂的操作中，但在维修和重新过滤这些装置时仍应使用适当的隔离技术。

④ 现阶段的指南建议在某些制造和调剂应用中使用二级 B2 型 BSC（完全排气），由于分离的 BSC 供应的非互锁操作和内部排气控制系统，要维持这个设备的适当操作有些困难。B2 中目前可用的设定频繁地产生供气和排气的不平衡，那种不平衡容易危及产品和人身保护的可靠性。直到有一种可使用的可靠的供气和排气直接互锁的系统，而这种系统可以同步协调零部件的运转，帮助两个之一的空气控制器与另外一个按比例匹配。不建议在药品生产和药品调配领域中使用二级 B2 型 BSC 作为一种安全 LAFD。

#### 4. 终端 HEPA 过滤组件

终端 HEPA 过滤组件 (TFM) 是一个一体化的 HEPA 过滤器和增压装置 (图 11), 用于为洁净空间提供层流或常规气流<sup>①</sup>, 或作为专用的 LAF 工作站<sup>[20]</sup>。TFM 用 10in (或 12in) 的轴衬通过一个循环供给管道与中央空气处理系统 [图 5 (a)] 相连才有效, 或作为自带马达和鼓风机的全动力的独立装置。它一般安装在天花板的 T 形体系中, 通过减震器悬挂在建筑学天花板或建筑支架上 [图 5 (b)], 构成洁净空间的天花板内部结构。永久性安装的或模块式的空气处理系统才能有效为洁净空间提供再循环的处理过的补充空气 (暖气、冷气、去湿等)。自带动力的 TFM 无法提供空气处理, 而且在安装这类装置时需要特别小心, 因为高噪声和热输出因素会使操作人员疲劳或者反过来影响对温度敏感的药品种。

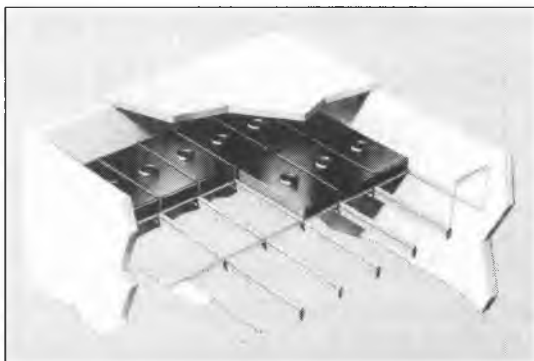


图 11 层流应用中安装于 T 形悬挂增压天花板上的 一体化终端 HEPA 过滤组件

TFM 也可任何大小的工作区提供 1~100 级的洁净度, 可以安装在天花板上 (垂直向下流) 或是安装在墙上 (水平流动)。使用这一设计, 可以直接向临界工作面提供和 LFCB 相同质量和数量的 1~100 级隐蔽的层流“初气流”。临界工作面的流出气流再供一般空间使用, 并与室内“缓冲”HEPA 过滤器结合, 这样既保证了临界工作面的高度控制, 也满足了一般空间的需要。已有几种廉价的设计可以有效地形成可靠的工作表面和缓冲区域, 在调剂和药品生产操作中都可使用<sup>[20]</sup>。

##### 4.1 管道中的 HEPA 过滤器

此类型的过滤中, HEPA 过滤器放置在供给管道系统中, 为所有的洁净区提供 100 级的空气, 从过滤器下游区的那一点一直到供给扩散器。这一安排一般用于以下几种情况: 洁净空间的操作需要少量供给空气; 过滤器的操作和处置有危险 (要求远程“袋进/出”限制隔离或其他特殊处理); 空间限制妨碍了 TFM 的安装。管道 HEPA 过滤器提

供常规气流, 是那些在临界工作区使用 LAFD 的洁净空间中次级或“缓冲”过滤的理想选择。但不推荐将管道中的 HEPA 过滤器作为 LAF 应用, 为临界工作面提供 1~100 级洁净度条件, 因为高等级污染控制必须采用连续“初气流”。

##### 4.2 充气增压式天花板

充气增压式天花板由无管的终端 HEPA 过滤器组件排列而成, 采用和 TFM 类似的方式安装在 T 形体系中。这些过滤器组件不直接通过管道和空气处理系统相连。所有组件中均匀流动的空气产生于整个 T 形天花板组合体上方增压的公共空间或“增压室”。这个增压室直接由一个空气处理机提供, 无须广泛的管道系统。充气增压式天花板一般作为头顶空间有限时的 LAF 应用。

##### 4.3 洁净室

洁净室是严格建造的专门洁净空间, 对其空气和表面清洗、温度、相对湿度、照明和噪声水平均有操作规范, 在洁净室内执行特定的关键操作<sup>[11]</sup>。对于需要大范围临界工作区的大规模操作 (无菌传送机, 无菌灌装操作等), 洁净室会设计成整个室内供应垂直或水平 LAF; 对于需要相对较少临界工作区的无菌操作, 洁净室会设计成常规供给的、控制的次级或“缓冲”区域, 安置一个或更多的小型 LAFD。

在现有的建筑或结构中, 洁净室处在中心区部位, 周围的支持通道、分级前厅、服务区和机械室辅助无菌操作, 提供工作物品、转移成品和废弃物, 同时既不引起交叉污染也不干扰临界工作区的气流。

## LAF 系统的测试和认证

LAF 设备必须进行彻底的定期测试, 以优化性能, 并证明其符合已制定的操作程序和工业标准。

### 1. 认证

这类的测试中广泛用到术语“认证”。然而, 只有注册的试验或测量实验室, 或其他直接从法规管理机构 (FDA、EPA、AIHA 等) 获得认证权利的组织才能提供认证, 而且还要经常接受审查。要使测试程序能作为性能认证, 该程序必须依照现行 GLP 执行和记录<sup>[21]</sup>。所有这种性质的现场测试构成了实验室的性能认证, 将实验室记录本上的每份实验报告获取号码作为实际的实验室测试程序。如果这种服务的卖主缺乏这种法规上的监督, 不管卖主拥有多好的职业联盟和会员资格, 买家必须考察卖主执行的所有测试程序是否具有足够的经验、适当的设备和效率<sup>[22]</sup>。

① 层流室的定义是室内滤过空气以平行流动的方式单向经过工作区且紊流最少的洁净室。层流室的 HEPA 过滤器产生均一的平行气流, 其天花板覆盖率 (垂直流动) 或墙覆盖率 (水平流动) 必须达到 80% 以上 (净滤器过滤介质面积/总面积=0.80)。



## 2. 卖主的资格认证

尽管大厂商拥有内部人员和设备来执行 LAF 设备测试,但这项任务经常会外包给测试承包商,他们的操作和结果的可靠性不会受到买家的质疑。为确保符合所有的试验标准和要求,药品制造商和药房从业人员对管理当局负有很大责任,因此选择一个合格的测试承包商十分必要。买家必须和将来的承包商面谈,并全面考察测试者的培训和经验、测验程序和使用的设备、设备校准和可追溯性以及建议书<sup>[22]</sup>。承包商应该做好准备,提供公司和个人的资格认证简历,包括至少三份最近提供过类似服务的客户参考资料<sup>[20]</sup>。

## 3. 测试设备的校准和可追溯性

LAF 设备测试者应该拥有执行 LAF 系统测试的必需设备<sup>[20]</sup>。该设备必须运行良好,而且至少每年按国家标准和测试协会(NIST)可追溯的记录进行校准<sup>①</sup>,或比生产者的指标或性能要求得更频繁<sup>[23]</sup>。NIST 可追溯的校准保证了所有试验设备的一致性、准确性和可用性,也确保了使用者适当的维护和保养。设备校准的 NIST 的可追溯性由一个详细的校准证书证明,每件设备的证明书都是由校准当局颁布的。

## 4. 认证标准

测试 LAF 设备的主要标准是标准操作程序 (standard

operating procedure, SOP),是特别为设备和系统设计的。SOP 通常由使用组织建立,定义了特定的 LAF 系统的校准和测试要求,而且应该包括:测试的范围、目的和频率;进行试验需要使用的设备;试验设备的校准;试验方法和执行标准;结果的文件存档;整改和承诺。SOP 应该从它的出处引用适用的参考文献和工业标准。在缺乏组织的 SOP 时,应该依照特定的 LAF 应用或操作方面所适用的工业标准测试 LAF 设备(表 3)。在这种情况下,管理小组会依据这些标准来证明 LAF 系统本身的功能和可用性。

## 5. 测试报告

测试操作完成后,需要发表一份综合报告,包括所有法规要求的测量值,列出所有测试设备、计算、转换、所有适当的统计学上的理由和关于系统功能和操作的评论。LAF 装置需要附加标明测试完成或认证日期的标签,注明与完成的测试报告有关的任何检查权威。所有报告应该包括洁净室的建筑平面图或地图、平面图需标明样品的位置、探针的高度、特殊的性能特征、系统调整和维修。

表 3 与 LAF 系统有关的法规和指南<sup>1),2)</sup>

	指南					法规										
	ASHIP (建议)	EN ISO 14644-1~6	IES-RP-CC-001-86 (测试HEPA过滤器)	IES-RP-CC-006-84-T (测试洁净室)	IES-RP-CC-018.2 (洁净室清扫和监测)	NSF 49	USP 1074 (建议)	FED-STD 209c	CGMP-CFR	CGLP-CFR	JCAHO	地方药典操作法案	地方公共卫生部门	OSHA 8.1.1	NRC-联邦	NRC-州 城市法规
药房(IV/TPN)	●						●				●	●	●			●
药房(CYTA)	●					●					●	●	●	●		●
家庭健康护理 (IV/TPN)			●	●	●		●				●	●	●			●
家庭健康护理 (CYTA)			●	●	●	●	●				●	●	●	●		●
护理室(IV/TPN)								●			●	●	●		●	●
核药学	●	●				●		●			●	●	●			●
药品生产		●	●	●	●			●	●	●		●				●
核药品生产		●	●	●	●	●		●	●	●		●		●	●	●
药品再包装		●	●	●	●	●		●	●		●			●	●	●

1) Lab Safety Corp 提供。

2) 现场反应产品: 非签约州。

TPN 代表全静脉营养; CYTA 代表细胞毒剂;

CFR 代表联邦法案; NRC 代表核管理委员会。

① 以前的国家标准局 (NBS), 华盛顿。

表 4 设备特性和性能<sup>1),2),3)</sup>

	洁净级 别联邦标准 209 C				应用										气流和设备构造							
	10级	100级	1 000级	100 000级	药房IV 要求	TPN (HA) 调剂	CYTA 调剂	产品保护	人员保护	技术筛选	微生物	无菌试验	工作区	洁净室	层流	常规气流	初气流工作区	终端过滤	管道过滤	房间通风	直接连接	报警单元
LFCB	2	1			1	1	3	1				1	1		1		1			1		
LFBSC 一级									1	1	3		1						1			1
LFBSC 二A级	2	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1				1	1	1
LFBSC 二B级		1	1 <sup>4)</sup>				2	2	1	1	1		1		1		2					1
LFBSC 三级																						
手套箱	2	1							1	1	1	1		1		2	1			1		1
管道内HEPA 过滤器				2	1	4	4			4			4		1		1		1	1		
终端HEPA 过滤器模块 (TFM)	2	2	1		4	4				4			4	2	1	2	1	2	1		1	
过滤器充气增压天花板	2	1							2						1	1		2	1			

1) 参见附件 B。

2) 1. 主工程控制; 2. 优化或改进; 3. 阻隔应用; 4. 次级或“缓冲”控制。

3) Lab Safety Corp 提供。

4) 早期设计。

## 6. 测试程序

### 6.1 空气速度

空气速度和层流质量的测定是 LAF 将系统测试的第一步。使用适当的仪器和测量技术<sup>[4,11,18]</sup>, 将所有 LAFD 层流速度和控制区的常规缓冲供给气流量调整到和有关 SOP 或工业标准一致, 并符合制造商技术指标和限制<sup>[20]</sup>。

### 6.2 HEPA 过滤器性能

验证了适当的速度之后, 依照工业标准, HEPA 过滤器应接受悬浮微粒的挑战<sup>[4,11,18]</sup>。这个试验是依据滤器滞留悬浮微粒的有效性, 在开始这项试验之前需验证试验悬浮微粒的上游浓度, 任何情况下都不能假设浓度足够。

### 6.3 粒子计数

空气洁净度的验证和取样环境洁净度等级的建立只能通过离散粒子计数<sup>[4]</sup>。依照 SOP 或工业标准, 对工作区、缓冲室、前厅、生产区和其他有确定的或合理假定的空气洁净度区域执行定期过程监控<sup>[4,11]</sup>。依据特定的空气洁净度水平, 使用具有足够取样速率、校准特点和动态范围的离散粒子计数器采集样品<sup>[4,17]</sup>。

### 6.4 噪声水平

LAF 环境或洁净空间内噪声超标会引起操作者不适合过早疲劳, 并显示 HEPA 过滤器故障、LAFD 或洁净空间空气处理装置失灵<sup>[20,24]</sup>。建议所有生物安全机柜进行机柜压力完整和振动分析。

### 6.5 可见光和紫外线强度

为了操作者的舒适和工作表面总可见度, 应该监控可见光强度<sup>[20,22]</sup>。所有具有紫外线杀菌特征的 LAFD 应该测量紫外线杀菌的有效性<sup>[18]</sup>。

## 层流洁净空间的项目开发

作为工程控制设备, 我们不能为了执行具有高置信度的理想的无菌操作, 对 LAF 系统的要求超越系统的能力来提供无菌、无悬浮微粒的工作区。也不必过于精心建造设备, 为了达到控制等级而使洁净空间的操作不必要的复杂化, 却并没有明显改善过程或成品, 无法达到预期目标反而浪费大量资源。为了建造一个既能满足无菌操作任务又花费最少的系统, 应该采取明确的、分阶段的方法设计并安装启用 LAF 系统, 不管系统的大小和复杂性。下面叙述的方法确保任何项目, 从简单的座舱盖安装到复杂过程的洁净室, 都会有最全面的开发和规划, 从而使其成功的可能性最大。

### 1. 概念化

首先, 对过程彻底完全地概念化, 应在方案中详细说明为了达到理想结果而采取的步骤。在为一个有效和可操作的设计制定技术要求时, 这份文件是与设计和机械工程师交流的基础, 确保在现有的费用范围内该设计可实施、有效、能运行。

### 2. 方案和项目管理

方案应该在项目经理的监管下制定, 该项目经理是依据其经验和对产品、目前和未来的市场、法规条例、预期

的无菌操作、该过程的工程学管理、设计、建造、验证、操作以及维护方法的理解来挑选的<sup>[25]</sup>。项目经理代表了业主的利益,在与外界的供应商和承包商的交易中充当联络员。在会议和讨论中,他或她应该从所有与计划的洁净室<sup>[26]</sup>有直接关联的团体中的关键人员和代表中获得信息,随着概念的进化,参与者在完成的方案中做适当的签字。这种方法可以防止事后不可预见的重要人员对系统操作的要求过高或者对系统性能不满意。概念化是依据下列考虑:

- 空间限制与工艺要求。
- 产品或工艺质量报告。
- 输出能力和增长期望。
- 工业标准和法规事宜。
- 要求的洁净等级。确定关键工作区和要求 LAF 的区域,而不是仅仅把这些区域都当作 100 级来对待。
- 工作气流。包括所有过程中必需的 QA/QC 步骤。
- 必需的工艺设备(表 4)。
- 确定所有要求 LAF 环境达到期望的洁净等级的工艺步骤。什么样的设施和设备的性能警报和活动限制是必需的,以及如何监控?
- 工艺设备的可携带性和灵活性要求。此工艺将来会不会扩大或修改?什么设备是必须永久性安装的,并需在洁净空间内“以铁丝围起”(hard wired)?
- 工艺设备服务和维护要求。
- 需要的工作人员数量。
- 工作人员训练。要求什么样式和布置的前厅,以方便擦洗、着装和储存隔离物品?
- 工艺物品分类和废物管理。
- 健康和安全要求。
- 设施清洁和维护程序。
- 设施验证、测试和再认证。
- 文件,即必需的记录、日志、标签等,以及这些文件产生和使用的时间地点和方式。

### 3. 法规事宜

由负责监管这些工业的管理机构和准管理小组,最终详细检查在药品生产和药房调剂的操作过程中 LAF 系统的操作。因为这些管理小组几乎无一例外地要求生产或调剂的操作依据“现行的工业标准”,管理条例和指南间的区别变得模糊。指南反映了所有技术最近的应用,经常采用管理条例作为工业标准的决定性因素。像这样,依照特定工业指南的操作经常被用来证明符合非特定或普通的管理条例——即 cGMP 或保健组织联合委员会鉴定标准(JCA-HO)。表 3 虽然不全,但还是列出了与 LAF 系统操作有关的、不同制药生产和调剂应用方面的管理条例和指南。

#### 3.1 设计

根据方案,下一步就是设施和工艺设计。在现存的空间内安装座舱盖、对现有空间的改良更新或建造一个全新的空间,都需要选择一个设计师并指定设计责任。设计师

的责任非常重要,个人和公司都要彻底明白其责任是提供洁净空间的设计<sup>[20]</sup>。

#### 3.2 建造

设计完成之后,选择建筑承包商。通常,在进行建筑阶段,设计师仍然有影响和辅助作用,他指导业主审核并挑选有丰富经验和设备能有效率地完成建筑任务的承包商。项目经理和设计师还要定期进行材料和建筑质量审核。

#### 3.3 验证和认证

验证是证明系统性能达到要求。作为工程控制,LAF 系统必须明确地支持预期的无菌或受控的工艺。验证无菌生产工艺和在药品生产应用中支持终端无菌的 LAF 系统应该依照工业标准执行<sup>[1,27~31]</sup>。这样的验证应该分三个阶段完成:安装确认(IQ)、运行确认(OQ)和工艺确认(PQ)。所有活动和结果都要有完整详细的文件存档<sup>[20]</sup>。

### 4. 洁净室建造和验证:低成本方法

下面叙述的是中小型药物再分装、家庭保健治疗药房和小型制药厂需要的低成本洁净空间的建造和操作的统一步骤。

#### 洁净室的设计

应该以支持无菌工艺的方法来概念化、设计、建造、验证、操作和维护洁净室。要建立、遵循和更新建造计划,包括获得劳工和物料的合理时段。所有的工作和物品应该符合当地的建筑法规和安全条例。

#### 5. HEPA 过滤

在为洁净空间确定天花板组合式过滤器密度时,第一步就是计算想达到的洁净等级必需的换气率(AC),而且必须精确计算,并且留有充分的余地保证要求的气流和洁净等级<sup>[20,32,33]</sup>。

#### 6. 空气处理

空气处理的需要量需要计算,空气处理机的型号和容量应该与场所的换气率、制暖、制冷和去湿要求匹配<sup>[34]</sup>,正如从反射的天花板计划所计算而得的一样。低成本“全承包”的空气处理系统可以在最短时间内得到,并几乎达到加工处理的任何预期水平。它们安装简单,操作方便,且易于维护。这种类型的组合式空气处理机的安装提供了处理过的空气,允许中心区和前厅区域作为独立装置来操作,其过程控制不依赖中央空气处理装置。单机安装或多组件安装这类低成本组合式空气处理机可以促进供给空气的完全处理和调节,为工作区和一般室内空气提供充足的室内空气以维持最高洁净度,同样也有利于中心区的温度和相对湿度及前厅的室内操作压的调节。另外,这类装置的生产商需要配备有经验的机械工程师,能够免费帮助业主决定其特定的应用所需要确切空气处理需求。参与概念化和设计阶段的所有人都必须有知识和经验方面的资格

证明, 业主应审核其资格证明。

## 7. 差别增压

洁净室场所应该仔细设计以控制污染物的进入, 并依据工业标准对其加压。以不同量的经过处理的流入空气对中心区和前厅加压<sup>[20]</sup>。但对拥有“软壁”的洁净空间设备, 这样的加压(潜在流出)无法实现, 因此需要具有充足的恒定的主动的流出空气(动态流出)来防止污染物的进入。

## 8. 照明和用电

应该依照当地建筑和用电条例提供常规电力服务。洁净空间对用电没有特殊要求, 考虑到辅助电力设备和电源强度的波动, 需要提供超过最坏情况时处理需求的 25~50A。依据工业标准和电力条例挑选和执行处理装置的固定型号、可密封插座和硬接线<sup>[20]</sup>。

## 9. 墙壁和窗户

墙体应该 5/8in 厚, 覆盖 16in 金属扣件的补墙板要居中, 或者包裹绝缘材料, 否则被认为不合格。洁净空间内部的墙壁最后铺一层用 RTV 硅酮对接和封口的搪瓷面板(大多数建筑材料处有售), 以保证墙壁面板、T 形天花板和地板底部接合处接缝的气密性(推荐使用澄明的 RTV 硅酮, 整洁有节制地刮边, 趁还是湿的时候清除所有残留。这种方法的封口不仅防水而且肉眼看不见, 有利于长期使用且易于清洗)。外部墙壁应漆上可以清洗的环氧搪瓷或适当覆盖, 并安装一个狭长的观察窗(推荐平面形状为 1:8~1:10, 无壁架)或一系列双格无壁架窗户, 以便未来的客户、监督人员和其他人可以完全观察操作过程。

## 10. 地板

前厅和中心室内地面铺设应该是采用整片的高耐磨性的乙烯基或其他合适的地板材料, 外观大方, 接口最少。这种地面应该铺设至墙边, 然后内凹向上离地面 8in~1ft 的距离, 采用合适的卷边, 并用 RTV 硅胶密封, 刮边, 晾干。中心室内不应有任何的排水口和其他的地板开口。在前厅可以有一个小的排水口, 以便清洁和堆放手推车和其他的材料。室内地面应按规定程序清洁: 用干湿真空吸尘器回收涂撒在地板上的清洁剂, 软管和喷头应放在洁净空间内, 真空吸尘器和相应的连接部分放在外面。

## 11. 天花板

前厅和中心区的天花板应该采用典型的 1.5in T 形建造, 并配有灯固定架、天花板嵌板和减震器以支持 HEPA 终端。嵌板可以从洁净空间供应商以精制的“洁净室”天花板嵌板的形式获得, 或者将附加的搪瓷墙壁嵌板减少到 2~4in(额定的)并附着永久黏性物使其成为标准的、平滑表面(无织纹的)、耐火、0.5in 的商品化天花板嵌板, 易于安装也方便 RTV 硅酮密封到位。因此天花板的安装可以达到永久性和气密性, 使得天花板可以像墙壁和地板一

样水洗, 而且在视觉上和墙壁融为一体。

## 12. 门和通道

门和通道应该便于工作人员和物品方便、完整地进出<sup>[20]</sup>。

## 13. 建设

设施建设应该基于完全的设计, 并结合常规的建造方法、工具和技术。组件的特殊准备工作是必需的, 包括组件和来自建造阶段潜在污染源的设备的清洗和防护。使用“干净施工”方法<sup>[20]</sup>, 保护工作物品免受建造中可能遇到的大气灰尘、锯屑、滑脂、油雾和其他残留的污染物。

## 14. 验证

完成设施的所有测试和认证后, 应该建立并保留文件存档, 作为在建造中依照计划书实施的证明<sup>[4,11]</sup>。应该依照 SOP 或工业标准执行定期静止和操作模式的再测试和监控<sup>[4,11]</sup>, 来维护设施的运作。

## 15. 操作

依照验证条件。操作使用合适的 SOP 和工业标准质量管理参数<sup>[28]</sup>, 完成验证、实施必需的警报和活动限制、监控程序和维护步骤, 并包括在生产周期文中, 然后才能开始设施运作。应该由有经验的工作人员以系统的方法对洁净空间的前厅、中心区、工作表面和工作人员屏障执行微生物监控<sup>[35]</sup>。

## 16. 工作人员挑选和验证

因为在任何控制过程中操作人员的效率是最大的变数, 因此应该建立一个筛选、培训、考核和分级制度来保证合适的候选人、充足的培训和洁净空间操作步骤的一致和连贯<sup>[12,14,15,36]</sup>。

## 17. 维护

应该严格依照工业标准建立并遵守洁净空间的维护 SOP 并加以记录<sup>[13]</sup>, 以保证依照验证的条件进行一致的操作。

## 参考文献

1. Friebe, W. R. Validation of Aseptic Processing Operations. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; 1, 355-359.
2. Kleinberg, M.; Shatsky, F.; Lumkin, B. Particulate Matter in In-Line Burettes. Particulate and Microb. Control 1983, 2 (5), 77-150.
3. Wilson, J. Infection Control in Intravenous Therapy. Heart Lung 1976, 5 (3), 430-436.
4. Commissioner, Federal Supply Service, General Services

- Admin. Clean Room and Workstation Requirements, Controlled Environment; U. S. Government Printing Office, Washington, 1976.
5. Falck, K.; Grohn, P.; Sorsa, M. Mutagenicity in Urine of Nurses Handling Cytostatic Drugs. *Lancet* 1979, 1, 1250—1251.
  6. Connor, T. H.; Anderson, R. W.; Sessink, P. J.; Broadfield, L.; Power, L. A. Surface Contamination with Antineoplastic Agents in Six Cancer Treatment Centers in Canada and the United States. *AJHP* 1999, 56 (14), 1427—1432.
  7. Laminar Flow Biological Safety Cabinets, A Training Manual for Biomedical Investigators; National Cancer Institute; Washington, 1972.
  8. Hinds, W. C.; Macher, J. M.; First, M. W. Size Distribution of Aerosols Produced by the Laskin Aerosol Generator Using Substitute Materials for DOP. *J. Am. Ind. Hyg. Assoc.* 1983, 44 (7), 495—500.
  9. Recommended Practice for Laminar Flow Clean Air Devices; Institute of Environmental Sciences; Mt. Prospect, IL, 1986.
  10. Recommended Practice for HEPA Filters; Institute of Environmental Sciences; Mt. Prospect IL, 1989.
  11. Recommended Practice for Testing Cleanrooms; Institute of Environmental Sciences; Mt. Prospect IL, 1984.
  12. Dirks, I.; Smith, F. M.; Furtado, D. Methods for Testing Aseptic Technique of Pharmacy Personnel. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1982, 39, 457—459.
  13. Cleanroom Housekeeping-Operating and Monitoring Procedures; Institute of Environmental Sciences; Mt. Prospect IL, 1989.
  14. McKeon, M. R.; Peters, G. F. VALITEQ Aseptic Technique Validation System Compounding Manual; Boylan, J. C., Ed.; Lab Safety Corp. Des Plaines IL, 1999; 35—37.
  15. OSHA. Work Practice Guidelines for Personnel Dealing with Cytotoxic [Antineoplastic] Drugs; U. S. Dept. of Labor; Washington, 1986.
  16. American Society of Hospital Pharmacists. ASHP Technical Assistance Bulletin on Handling Cytotoxic and Hazardous Drugs. *Am. J. Hosp. Pharm* 1990, 47, 1033—1049.
  17. Galatowitsch, S. Technique May Be Culprit Behind Class II BSC Contamination. *Cleanrooms* 1999, 13 (11), 1, 4—45.
  18. National Sanitation Foundation. NSF Standard 49; Advisory Committee for Biohazard Cabinetry; Ann Arbor, MI, 1995.
  19. Farquharson, G. J. Isolators for Pharmaceutical Applications. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1999; 18, 121—136.
  20. Peters, G. F. Laminar Airflow Equipment; Engineering Control of Aseptic Processing. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1993; 8, 317—359.
  21. Food and Drug Administration. Current Good Laboratory Practices; Washington, 1992.
  22. Bryan, D.; Marback, R. Laminar-Airflow Equipment Certification; What the Pharmacist Needs to Know. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1984, 41, 1343—1349.
  23. Recommended Practices for Equipment Calibration or Validation Procedures; Institute of Environmental Sciences; Mt. Prospect IL, 1986.
  24. OSHA. Standard 1910.95; U. S. Dept. of Labor; Washington, 1971.
  25. Facility Design Considering Safety, Monitoring and Detection; A Team Approach (Verbal Communication) Microcontamination Conference, Santa Clara, CA, 1988.
  26. Whyte, W. Cleanroom Design; Wiley; New York, 1991.
  27. Food and Drug Administration. Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals; Washington, 1992.
  28. Kozicki, M.; Hognie, S.; Robinson, P. Cleanrooms; Van Nostrand, Reinhold, Eds.; New York, 1991.
  29. Parenteral Drug Association. Validation of Aseptic Filling for Solution Drug Products; Philadelphia, 1980.
  30. American Society of Hospital Pharmacists. Technical Assistance Bulletin on Quality Assurance for Pharmacy-Prepared Sterile Products. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1993, 50, 2386—2398.
  31. Sterile Drug Products for Home Use; The United States Pharmacopoeial Convention, Inc.; 1998.
  32. Dixon, A. Cleanroom Management Manual; Cleanroom Management Association; Tempe, AZ, 1991.
  33. Guideline on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing; Food and Drug Administration; Washington, 1987; 20—27.
  34. High Performance-Low Energy-Cost Cleanroom: A Case Study Microcontamination Conference, Santa Clara, CA 1990.
  35. Peters, G. F.; McKeon, M. R. Microbiologic Monitoring of Aseptic and Controlled Processes. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 2000; 19, 239—278.
  36. Dixon, A. Training Cleanroom Personnel. *J. Parent. Sci. Technol.* 1991, 45 (6), 276—278.

## C

## 超级崩解剂的性质及其作用

Larry L. Augsburger

Huijeong A. Hahm

University of Maryland School of Pharmacy, Baltimore, Maryland, U. S. A.

Albert W. Brzezczko

Atlantic Pharmaceutical Services, Owings Mills, Maryland, U. S. A.

Umang Shah

Parke-Davis Division, Warner Lambert, Morris Plains, New Jersey, U. S. A.

## 引言

崩解剂常用于片剂和某些硬胶囊处方中,用以促进水分的渗透以及制剂在溶出介质中基质的分散。口服制剂理想状态下应该能分散成其初级粒子形式,该制剂即是用初级粒子制成的。虽然多种化合物可用作崩解剂,并对其进行了评价,但目前常用的还是比较少。传统上,淀粉曾被

用作片剂处方中首选的崩解剂,且现在仍然被广泛应用,但淀粉远不够理想。例如,淀粉用量超过5%时就会影响其可压性,这一点在直接压片中尤其突出。另外,湿法制粒中粒子内的淀粉并不如干淀粉有效。近年来,开发了一些新型的崩解剂,通常称之为超级崩解剂,它们的用量比淀粉要少,只占整个处方的一小部分,因此对片剂流动性和可压性的负面影响可以减小。按照其化学结构,这些新的崩解剂可分为三种类型(表1)。

表1 超级崩解剂的分类(仅列出部分)

结构类型(NF名称)	描述	商品名(供应商)
改性淀粉 (羧甲基淀粉钠)	羧甲基淀粉钠,羧甲基引起亲水性,交联减小溶解度	Explotab® (Edward Mendell) Primojel® (Generichem) Tablo® (Blanver)
改性纤维素 (交联羧甲基纤维素)	羧甲基纤维素钠,交联使得材料在水中不溶	AcDiSol® (FMC) Nymcel ZSX® (Nyma,) Primellose® (Avebe) Solutab® (Blanver)
交联聚乙烯吡咯烷酮 (交联聚维酮)	交联聚乙烯吡咯烷酮,高相对分子质量和交联使得材料在水中不溶	Crospovidone M® (BASF) Kollidon CL® (BASF) Polyplasdone XL (ISP)

## 化学及表面形态

## 1. 羧甲基淀粉钠

羧甲基淀粉钠是一种超级崩解剂,是由交联的羧甲基淀粉钠形成<sup>[1]</sup>。交联通常采用磷酸三氯化物或三偏磷酸钠的化学反应,或者经过物理方法处理。羧甲基化就是先在碱性介质中使淀粉与氯乙酸钠起反应,然后用柠檬酸或乙酸中和,此工艺就是著名的Williamson醚合成法。该合成能使大约25%的葡萄糖发生羧甲基化。副产物也能部分被洗出,这些副产物包括氯化钠、乙醇酸钠、柠檬酸钠以及乙酸钠。崩解剂的粒径可以通过取代和交联过程予以

增大<sup>[3]</sup>。

羧甲基淀粉钠一般成球状,因此具有很好的流动性<sup>[4]</sup>。图1就是一些常用的羧甲基淀粉钠商品的扫描电镜照片。

## 2. 交联羧甲基纤维素钠

交联羧甲基纤维素钠源于纤维素醚,即水溶性聚合物羧甲基纤维素的内交联,是由纤维二糖重复单元构成的,每个纤维二糖单元是由两个葡萄糖酐通过 $\beta$ 1,4-糖苷键连接而成。每个单元还有三个羟基。取代度是指被羧甲基取代的平均羟基数。交联羧甲基纤维素钠是由粗纤维素制成,将这些天然纤维素浸在氢氧化钠溶液中<sup>[1]</sup>。纤维素再与单氯乙酸钠反应生成羧甲基纤维素

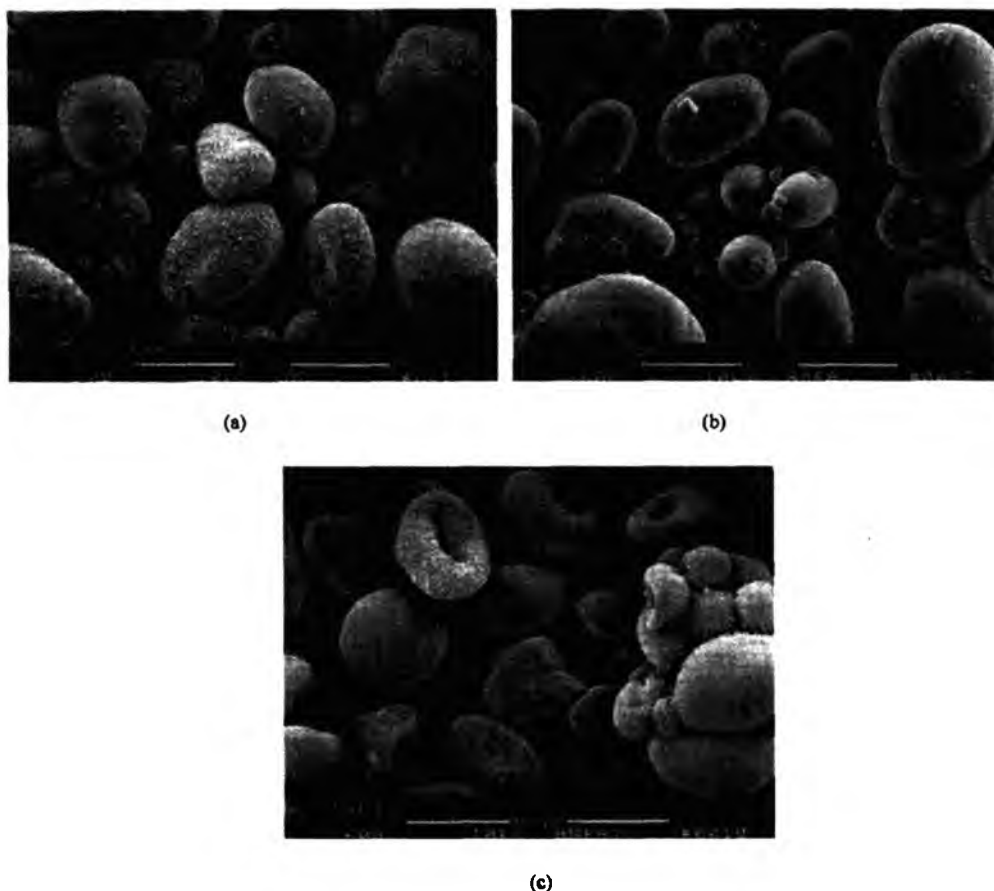


图1 羧甲基淀粉钠的扫描电镜照片 (a) Explotab®; (b) Primojel®; (c) Tableo® (放大600倍)

钠。取代完成后, 多余的单氯乙酸钠就会慢慢水解成乙二酸。这些乙二酸能把少数羧甲基钠转变成为自由酸, 进而催化交联反应形成交联羧甲基纤维素钠, 同时产生副产物氯化钠和乙醇酸钠。大部分副产物可以被除去, 主产物经乙醇提取纯度可达99.5%。交联羧甲基纤维素钠经研磨后, 纤维聚合物就会变成更小的片段进而使其流动性提高。

由于交联羧甲基纤维素钠粗粒子中存在交错的纤维形态和不同长度的片段, 因此它不像羧甲基淀粉钠那样具有很好的流动性。低温研磨可改善其流动性。扫描电镜表明, 交联羧甲基纤维素钠粒子带有较尖的纤维末端, 这可能是由于研磨造成的(图2)。

### 3. 交联聚维酮

交联聚维酮是一种交联的 *N*-乙烯基-2-吡咯烷酮聚合

物。反应物乙炔和甲醛是用于合成丁炔二醇的。丁炔二醇通过氢化作用和随后的环脱氢化作用形成丁内酯, 丁内酯再与氨反应生成吡咯烷酮, 然后于一定的压力下与乙炔进行乙烯基化反应生成乙烯吡咯烷酮。乙烯吡咯烷酮线性聚合成一种可溶性的黏合剂聚乙烯吡咯烷酮, 而乙烯吡咯烷酮非线性聚合成一种不溶性的超级崩解剂, 即交联聚维酮。非线性聚合产生的副产物包括乙烯吡咯烷酮和聚乙烯吡咯烷酮。交联聚维酮中可溶性成分低于1.5%, 通过红外光谱确定该可溶性成分为聚乙烯吡咯烷酮。

与其他两种超级崩解剂相比, 交联聚维酮有着显著不同的外观, 其粒子是由相互熔融的粒子聚集体组成。这种聚集体使得交联聚维酮呈海绵样的多孔外观(图3)。扫描电镜照片显示, 减小交联聚维酮的粒径将会增加其单位质量的表面积, 但是会降低粒子内的空隙率和偏离海绵样外观<sup>[4]</sup>。

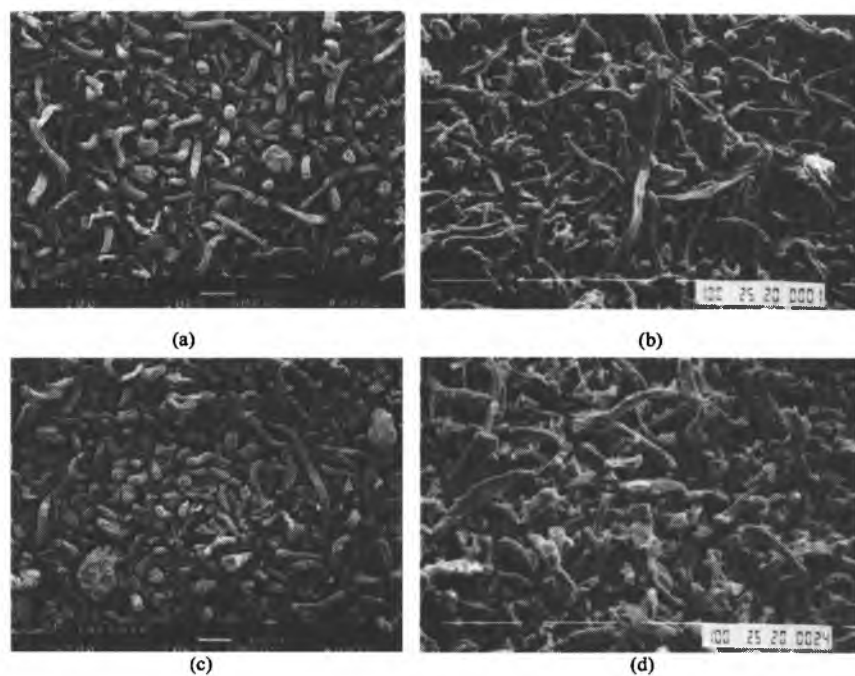


图 2 交联羧甲基纤维素钠的扫描电镜图  
(a) AcDiSOI®; (b) Nymcel ZSX®; (c) Primellose®; (d) Solutab® (放大 100 倍)

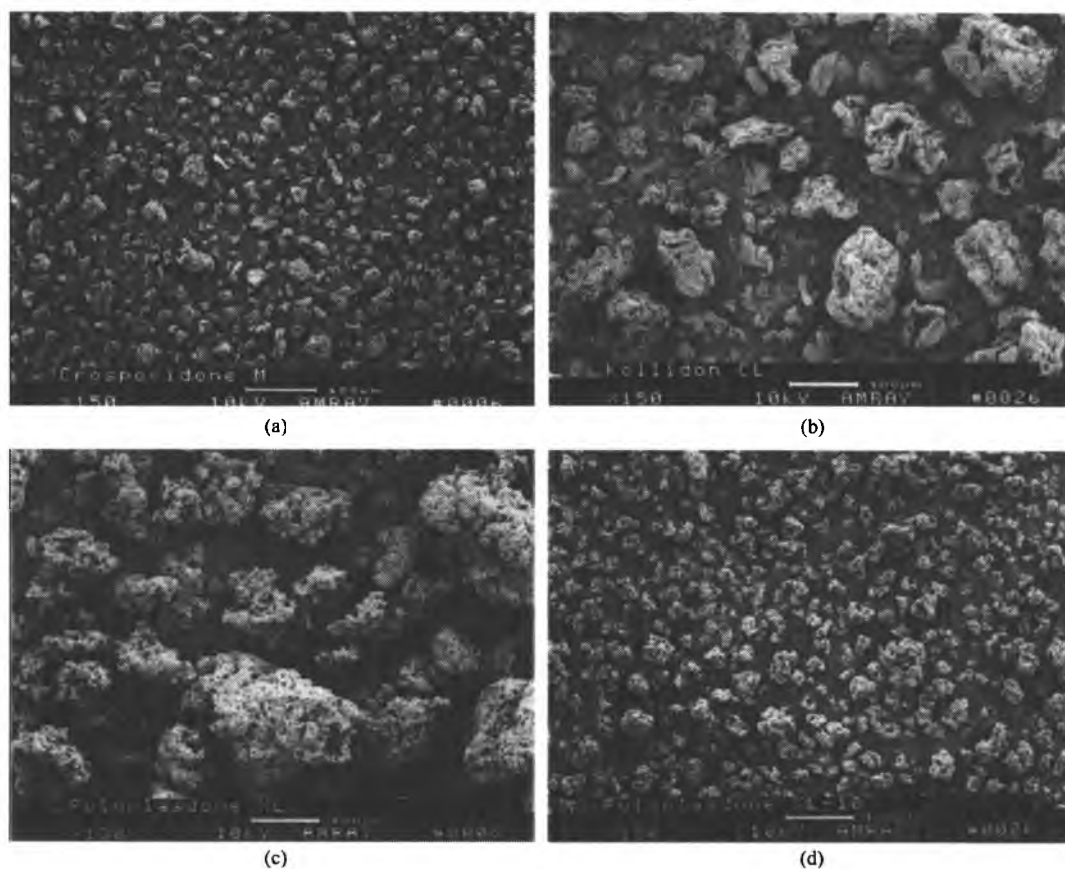


图 3 交联聚维酮的扫描电镜图  
(a) Crospovidone®; (b) Kollidon CL®; (c) Polyplasdone XL®; (d) Polyplasdone XL-10® (放大 150 倍)



## 崩解机制

尽管在固体制剂中崩解剂是很重要的成分,但是它们的作用机制至今尚未被完全阐明。过去曾提出的机制包括毛细管作用、膨胀作用、变形回复、排斥作用以及润湿热。看起来好像还没有单一的机制能解释崩解剂的复杂行为。然而,这些已有的机制能够为我们对崩解作用的不同方面作出解释。

### 1. 毛细管作用

一种有效的崩解剂能够将水拉入片剂的空隙内。对于交联聚维酮,毛细管作用被认为是其主要的崩解机制。Kornblum 和 Stoopak<sup>[5]</sup>研究发现交联聚维酮膨胀程度很小,而是迅速吸水。即便是广泛膨胀的羧甲基淀粉钠,当改造结构提高其吸水性后也能显示增强的崩解能力,这一研究被 Rudnic 等证实<sup>[6]</sup>。毛细管作用不像膨胀作用那样需要通过体积的增大产生崩解力。

系统吸水能力可以用 Washburn 方程来概括<sup>[7]</sup>:

$$L^2 = \left( \frac{\gamma \cos \theta}{2\eta} \right) rt \quad (1)$$

Washburn 方程太简单,不能应用于动态的片剂崩解过程,但是它能够说明表面张力( $\gamma$ )、孔径( $r$ )、固液接触角( $\theta$ )以及液体黏度( $\eta$ )的任何变化都能改变水分的渗透率( $L$ =毛细管中水渗透长度; $t$ =时间)。例如,Rudnic 等<sup>[8]</sup>在评价不同粒径的交联聚维酮崩解效率时发现那些具有大粒径范围(50~300 $\mu\text{m}$ )的交联聚维酮崩解时间很短。大的粒径很可能会产生大的孔径并能改变孔的形状。事实上,由于大的粒径而导致的长纤维可能会提高毛细管吸水进入制剂基质的效率。

与传统淀粉相比,超级崩解剂能够以更大的速率将水引入基质中<sup>[9]</sup>。Van Kamp 等<sup>[10]</sup>使用一种水吸收测量仪,发现像羧甲基淀粉钠那样吸水能力很强的制剂很快就能崩解。虽然疏水性表面活性剂硬脂酸镁看起来会对毛细管作用造成影响,但那些含有羧甲基淀粉钠的制剂几乎不会受此影响。Lerk 等<sup>[11]</sup>也发现当崩解剂与硬脂酸镁混合不同时间时会降低润湿速率。润湿速率的降低与混合时间成比例。这种研究预示着由于长时间的混合,硬脂酸镁会出现分层。

### 2. 膨胀作用

尽管水分的渗透对于崩解来说是首要环节,然而膨胀作用很可能是最广泛被接受的片剂崩解机制。实际上,大多数崩解剂都有一定程度的膨胀,但它们之间膨胀性质上的差异会使得该机制不能成为合理的唯一机制。

最早用来测量膨胀程度的方法是测量沉降体积。Nogami 等<sup>[12]</sup>开发了一种用于测量膨胀率和吸水能力的可靠方法,Gissinger 和 Stamm<sup>[13]</sup>改进了该装置并给出某

些崩解剂膨胀率与崩解作用的相关性。后来,List 和 Muazzam<sup>[14]</sup>利用该装置并运用力和传感器测量了膨胀率和膨胀力。他们发现能够产生大膨胀力的崩解剂一般会更有效。

由于膨胀被认为是一种有效的崩解机制,那么在膨胀过程中一定会存在一种超微结构。崩解剂的膨胀将会产生膨胀力。制剂中如果具有大的空隙将会缓解膨胀作用,进而削弱崩解剂的作用。但是,若膨胀作用不能迅速发生,则容易通过塑性形变产生形变的基质只能使崩解剂部分膨胀。

某些崩解剂的膨胀作用依赖于介质的 pH。据 Shangraw 等<sup>[3]</sup>报道,阴离子交联淀粉和纤维素的沉降体积在酸性介质中会发生改变。而 Polyplasdone XL<sup>®</sup>和淀粉 1500<sup>®</sup>不变。在另一项研究中,Chen 等<sup>[15]</sup>发现含有 Primojel<sup>®</sup>和 AcDiSol<sup>®</sup>的对乙酰氨基酚片剂在酸性介质中比中性介质中崩解和溶出的时间长,而那些含有 Polyplasdone XL<sup>®</sup>的片剂就不存在这种差异。Mitrevaj 和 Hollenbeck<sup>[16]</sup>把单个的粒子置于载玻片上并暴露于高湿度条件下,通过显微镜观察其膨胀度,结果表明某些超级崩解剂具有显著的膨胀能力。

另外,当 Caramella 等<sup>[17~19]</sup>评价不同崩解剂的膨胀能力时发现,最大崩解力与粒子膨胀百分数之间没有关系。因为他们确实发现崩解力的产生与崩解时间存在一定的关系,所以作者认为崩解力的产生速率是决定性的因素。膨胀力的产生如果慢的话,片剂就有可能不发生键的断裂而会使应力得到缓解,因此产生快速膨胀力是人们所希望的。

### 3. 变形恢复

所谓变形恢复,理论上就是指崩解剂粒子在压缩时发生形变,当其遇湿后能够恢复到原来的形状,从而造成片剂的瓦解。Hess<sup>[20]</sup>通过显微照片发现变形的淀粉粒子遇湿后恢复至原来的形状。

Fassih<sup>[21]</sup>认为,在较高的压力下,崩解依赖于片剂的力学活性,它来自于压缩过程储存的机械能。他研究了处方组成为 Emdex 粉末、硬脂酸镁和 5% 的崩解剂的片剂的崩解时间,发现不论用哪种崩解剂(羧甲基淀粉钠、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠或淀粉),崩解时间均会随压缩力的增大而延长,而当压力超过 120 MN/m<sup>2</sup> 时,崩解时间又会缩短。

对于形变及形变恢复这一崩解机制的研究还不完全。然而,对于那些很少能产生膨胀作用的诸如交联聚维酮和淀粉那样的崩解剂来说,这种崩解机制会成为崩解剂作用的重要作用机制。这种崩解剂的崩解能力可能取决于崩解剂的相对屈服强度以及所压制辅料的相对屈服强度,因为崩解性能依赖于崩解剂颗粒承受多大的形变。而且,在片剂放置过程中时间依赖性应力松弛可能是颗粒间黏结剂不能保持形变的因素,因为由崩解剂引起的形变会随着基质的松弛逐渐恢复。

#### 4. 排斥理论

Ringard 和 Guyot-Herman<sup>[22]</sup>已提出一种粒子间排斥理论,这种理论用于解释那些虽不具备好的膨胀能力但能够对片剂的崩解发挥作用的崩解剂,如淀粉。按照这个理论,水通过亲水孔道渗透进药片,且连续的淀粉网状物能将水分从一个粒子输送至下一个粒子,从而产生重要的流体静压力。然后水由于淀粉表面的亲和力而渗透进淀粉颗粒间,从而破坏了氢键和其他维持药片结构的力。目前,这一理论还没有足够的证据支持。

#### 5. 润湿热

Matsumara<sup>[23]</sup>发现淀粉粒子遇湿后能够轻微地放热,导致片剂中残留的空气膨胀而产生局部压力。不幸的是,如果这种解释合理,将只限于很少一些物质,如硅酸铝和高岭石。List 和 Muazzam<sup>[24]</sup>发现并不是所有的崩解剂都会产生润湿热,即便能够产生很大的润湿热,崩解时间也不一定缩短。Caramella 等<sup>[25]</sup>发现在一些处方中,即便温度升高引起空气膨胀,内部也不会产生很大的应力。因此,他们认为,由润湿热导致孔中空气膨胀这一解释还不能得到数据证明。最近,Luangtana-anan 等对碳酸镁和 Emcompress<sup>®</sup>片剂中粉末的湿热现象进行了考察<sup>[26]</sup>。

碳酸镁片剂能够产生很大的润湿热,比 Emcompress<sup>®</sup>片剂易崩解。实际上,使用一种热力学方法去设计片剂崩解机制模型会很有趣,但仅靠润湿热来解释崩解还是不够的。

#### 6. 统一的机理——崩解力或压力的产生

在片剂崩解机制中,崩解力产生的速率也许会成为—个总的因素<sup>[19]</sup>。一些现有的机制主要是用来阐述如何产生

崩解力的。Brzezko<sup>[27]</sup>建立了一种方法,可以同时测量片剂水分摄入速率以及轴向和径向崩解力产生的速率。如图4~图6所示,片剂压缩对轴向力的贡献大于对径向力的贡献。该研究是以三种主要类型的超级崩解剂为模型进行的,三种情况下崩解剂浓度相同。实验证明,在无水乳糖体系中产生的最大轴向力比磷酸氢钙二水合物体系要低得多。在可溶性和不溶性基质中崩解行为的不同可能与压力的产生和液体的摄入有关。图7比较了含2%超级崩解剂的磷酸氢钙和乳糖剂的最大轴向崩解力与片剂崩解时间的关系<sup>[27]</sup>。可见,高的崩解力会加速磷酸氢钙片剂崩解,但会使乳糖片剂崩解速率减慢。对于磷酸氢钙片剂,较高的轴向崩解力会使其崩解时间缩短,而对于比其崩解力低得多的乳糖片剂,则似乎不存在这种关系(图8)。如图9、图10所示的那样,最大水分吸水量与水分吸入速率看来与崩解时间也不挂钩了。然而,对于乳糖体系,快速的水分吸入反而使其崩解速率减慢。据说快速的液体吸入会导致乳糖快速溶解,孔隙率增大,从而容许膨胀或结构恢复。

Peppas<sup>[28]</sup>把可溶性和不溶性体系之间崩解速率的差异归因于两种机制,即界面控制机制和扩散控制机制,用公式表示如下:

$$F/F_{\infty} = 1 - \exp(-kt^n) \quad (2)$$

式中:  $F$  代表时间  $t$  时的崩解力;  $F_{\infty}$  代表能够产生的最大崩解力;  $k$  是膨胀速率常数;  $n$  代表两种机制中的哪一个控制崩解。界面控制现象指粒子从片剂界面上脱落,而扩散控制现象是指粒子扩散出去。尽管人们认为两种机制同时发生,但崩解依赖于两种体系的程度会有所不同。例如,当  $n$  小于 0.6 时,扩散机制占主导作用,而  $n$  大于 0.9 时,界面控制机制起主导作用。其中  $n$  值取决于系统的溶解性。

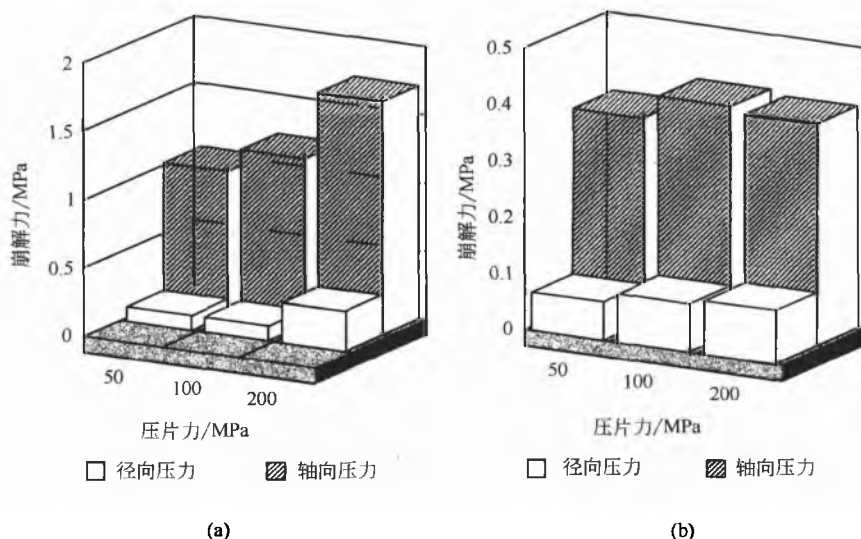


图4 压力对 (a) Ditasol<sup>®</sup>和 AcDisol<sup>®</sup> (5%) 及 (b) 乳糖和 AcDisol (5%) 的片剂的径向和轴向崩解力的影响<sup>[27]</sup>

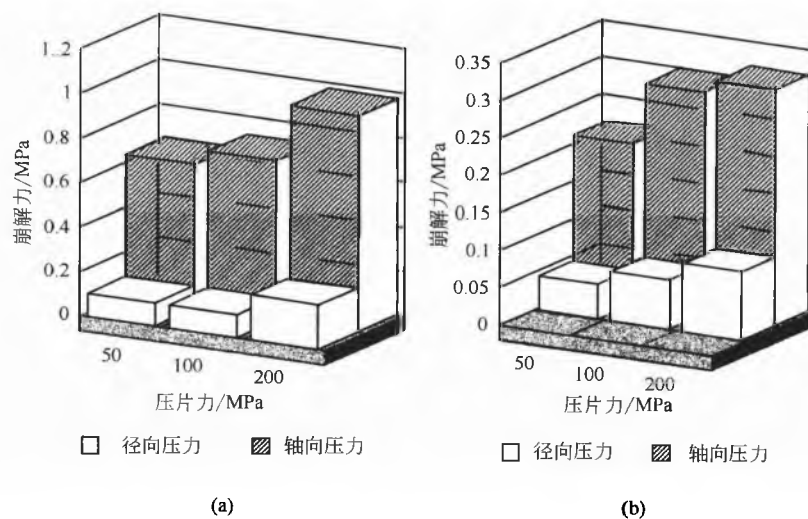


图5 压片力对 (a) Datab®和 Primojel® (5%) 及 (b) 乳糖和 Primojel® (5%) 的片剂的径向和轴向崩解力的影响<sup>[27]</sup>

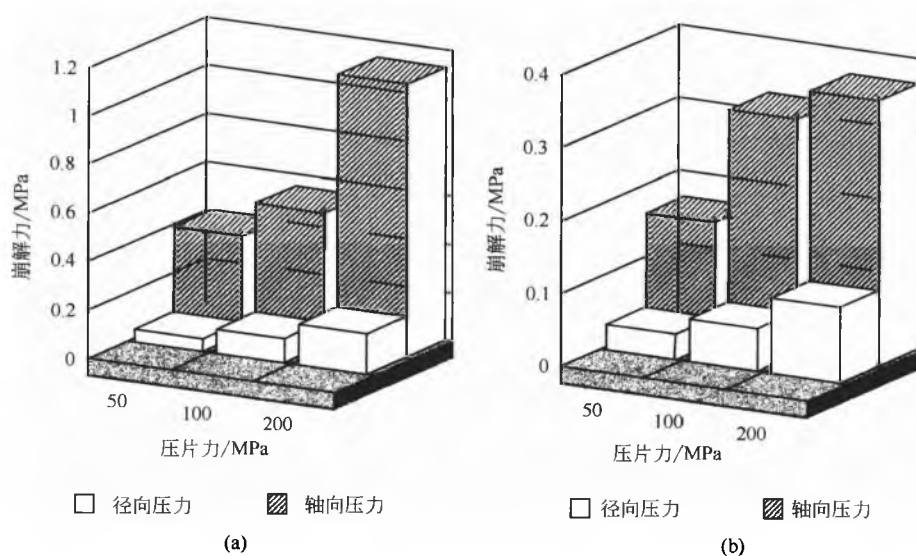


图6 压片力对 (a) Datab®和 Polyplasdone XL® (5%) 及 (b) 乳糖和 Polyplasdone XL® (5%) 的片剂的径向和轴向崩解力的影响<sup>[27]</sup>

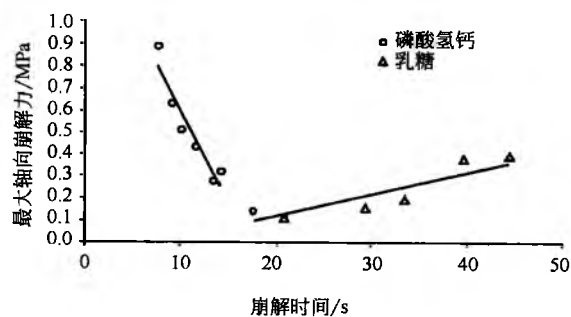


图7 含2%超级崩解剂的磷酸氢钙和乳糖片剂的最大轴向崩解力与崩解时间的关系<sup>[27]</sup>

○=磷酸氢钙,  $r^2=0.92$ ,  $p<0.05$ , 显著相关; △=乳糖,  $r^2=0.81$ ,  $p<0.05$ , 显著相关

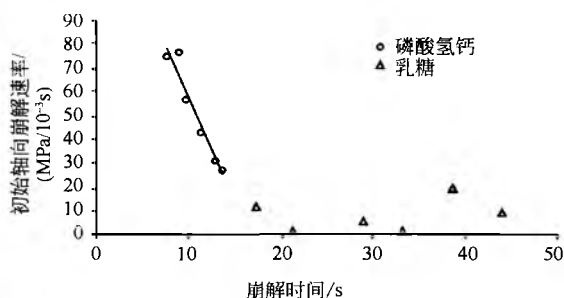


图8 含2%超级崩解剂的磷酸氢钙和乳糖片剂的初始轴向崩解速率与崩解时间的关系<sup>[27]</sup>

○=磷酸氢钙,  $r^2=0.95$ ,  $p<0.05$ , 显著相关; △=乳糖,  $r^2=0.10$ ,  $p<0.05$ , 无显著相关

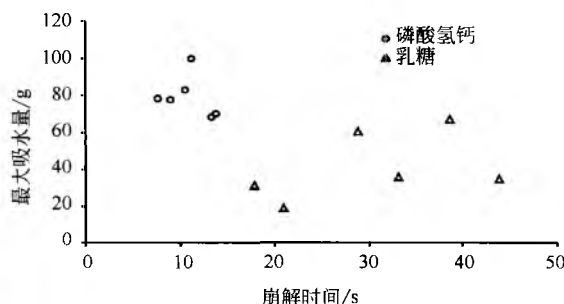


图9 含2%超级崩解剂的磷酸氢钙和乳糖片剂的最大吸水量与崩解时间的关系<sup>[27]</sup>

○=磷酸氢钙, 无显著相关; △=乳糖, 无显著相关

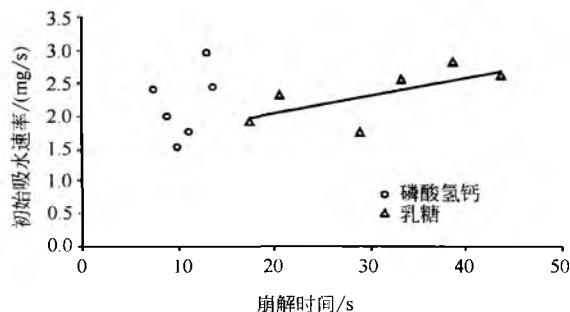


图10 含2%超级崩解剂的磷酸氢钙和乳糖片剂的初始吸水速率与崩解时间的关系<sup>[27]</sup>

○=磷酸氢钙, 无显著相关; △=乳糖, 无显著相关

因为超级崩解剂高度亲水但在水中不溶, 因此可预料它们通过界面效应崩解片剂要比控制扩散更加有效。实际上, Caramella 等发现, 含有不溶性磷酸钙的片剂易崩解, 而含有高度可溶性 $\beta$ -乳糖的片剂崩解较慢。这一现象可以用包含 $\beta$ -乳糖体系的 $n$ 值小来解释。换言之, 超级崩解剂的界面控制机理不能够超过 $\beta$ -乳糖的扩散控制机制<sup>[29]</sup>。

## 崩解影响因素

### 1. 粒径

崩解速率和崩解力可能取决于崩解剂的粒径。

Smallenbroek等<sup>[30]</sup>发现具有较大粒径的淀粉粒能更有效地促进崩解, 这很可能是由于大粒子会更有效地形成崩解剂的连续亲水网络。而且, Rudnic等<sup>[8]</sup>发现粗的交联聚维酮(50~100 $\mu\text{m}$ , B级; 50~300 $\mu\text{m}$ , C级)比细的(0~15 $\mu\text{m}$ , A级)更有效, 其中B级和C级崩解效率差异不大。当List和Muazzam<sup>[24]</sup>对两种不同级别的交联聚维酮粒子(100~200 $\mu\text{m}$ 和>315 $\mu\text{m}$ )进行考察时, 发现两种级别粒子的崩解效率非常接近(见表2)。对其他崩解剂如Amberite IRP88<sup>®</sup>和马铃薯淀粉的研究结果表明, 粗粒子的崩解效果优于细粒子。对于可以很好膨胀的崩解剂, 可以通过考察崩解力的产生来解释其崩解效率。实际上, 大粒子的羧甲基淀粉钠要比小粒子的膨胀速率快且程度较大<sup>[6]</sup>。

表 2 颗粒大小和压力对膨胀压和崩解时间的影响

崩解剂	压力/bar <sup>1)</sup>	粒径/ $\mu\text{m}$	膨胀压/bar	崩解时间/s
Amberlite IRP88®	625	<50	0.660	84
	1560	<50	1.121	30
Amberlite IRP88®	625	100~200	1.083	52
	1560	100~200	2.262	22
马铃薯淀粉	625	<50	0.165	254
	1560	<50	0.310	164
马铃薯淀粉	625	80~100	0.234	160
	1560	80~100	0.445	77
Polyplasdone XL®	625	100~200	0.898	31
	1560	100~200	1.772	14
Polyplasdone XL®	625	>315	0.760	42
	1560	>315	1.480	17

1) 1bar=10<sup>5</sup>Pa。

注：片剂组成为 2.5%崩解剂，1%硬脂酸镁和 Emcompress®。

## 2. 分子结构

不同的崩解剂具有不同的结构，这取决于它们的生产 and 加工过程。例如玉米淀粉，其结构中含有不同比例的二糖片段、直链淀粉和支链淀粉。Schwartz 和 Zelinske<sup>[31]</sup>认为，线性聚合物直链淀粉具有崩解作用，而支链淀粉具有黏性。改变直链与支链淀粉的比例不会对所制得的片剂的孔隙率造成影响。Rudnic 等<sup>[6]</sup>对羧甲基淀粉钠的交联和羧甲基化的作用给出了评价，其结论是崩解剂的膨胀度与其交联度显著成反比。膨胀度也与取代度成反比，但影响程度不大。Shah 等<sup>[32]</sup>发现具有很大相对分子质量且羧甲基化程度低的羧甲基纤维素是最好的片剂崩解剂。

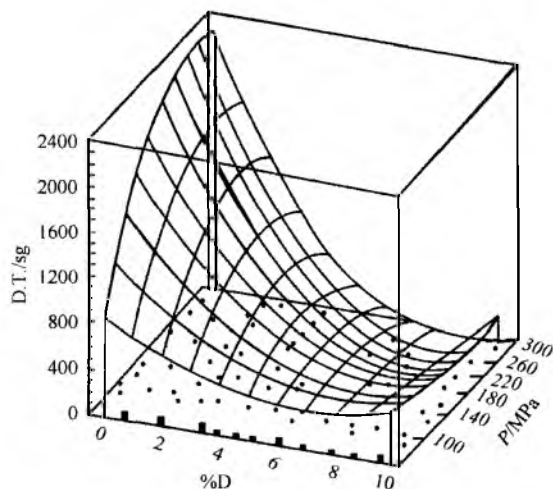
## 3. 压力的作用

压力以各种方式影响片剂的崩解时间。首先，它通过控制片剂的孔隙率来控制溶出介质向基质中的渗透。低的压缩力会导致较大的孔隙率，从而使水分快速渗透。但是，有人观察到含有淀粉的片剂当压力增大时其崩解时间会缩短<sup>[21]</sup>。在较低的压力下，任何可能的膨胀和发生的变形恢复会或多或少地被孔隙抵消，但在中等压力的情况下，会产生很好的崩解效果。在高压力的情况下，由于孔隙率的降低会阻碍液体的渗透，所以这时崩解剂的变形就会占主导地位了。总之，List 和 Muazzam<sup>[14]</sup>发现，当磷酸氢钙基质片剂中含 2.5%的安伯莱特树脂、淀粉和交联聚维酮时，若压力增大，膨胀压也会随之增大（见表 2）。类似的发现也被 Fassihi<sup>[21]</sup>和 Brzezko<sup>[27]</sup>报道过。

在两个不同的研究中，Khan 和 Rhodes<sup>[33,34]</sup>观察到在低压力下，含有羧甲基淀粉钠的片剂崩解相对较慢，在中等压力下崩解加快，在高压下反而会变慢。然而，压力对其他类型崩解剂的崩解时间的影响会有很大不同，比如阳离子交换树脂、海藻酸盐以及各种类型的淀粉。这可

能是因为压力对崩解剂的崩解时间的影响取决于崩解剂的性质，比如它们的崩解机制和变形性质。

Munoz 等<sup>[35]</sup>发现，压力对崩解时间的影响随超级崩解剂 Explotab®用量不同而不同。图 11 显示，浓度约为 7% 的崩解剂能使崩解时间达到最短。在该浓度下，压力与压制时间几乎没有关系。在较低的崩解剂浓度下，崩解时间主要受压力的制约，在中等压力下显示出很快的崩解速率。这种压力对崩解时间的二相效应在 AcDiSol<sup>®</sup><sup>[36]</sup>中也存在，而且表面效应曲线与 Explotab®的类似。当以 5% 和 10% 的崩解剂来考察崩解时间时，发现 5% 的 AcDiSol®产生最低的孔隙率、最低的屈服压和最短的崩解时间；而在 10% 水平时，片剂就会显示出轻微的压制后膨胀，这说明浓度为 10% 的崩解剂与 5% 的崩解剂比起来，崩解时间会稍微增加。

图 11 崩解时间与压力和崩解剂用量的面响应<sup>[11]</sup>

由此可见，压力对崩解效率的作用很大程度上取决于崩解剂的作用机制。膨胀作用和变形恢复很可能依赖于一个能够使片剂达到临界孔隙的压力。另一方面，若片剂被压缩至孔隙率很小时，起着首要作用的毛细管对液体吸收的作用机制将受到影响。

## 4. 基质的溶解性

崩解机制不仅依赖于崩解剂本身而且还依赖于基质。崩解剂在不溶性的基质中能更好地发挥作用<sup>[27]</sup>。比如那些含有磷酸钙的不溶性基质，如果没有崩解剂的存在就不能够充分地崩解。另一方面，那些由水溶性的填充剂和药物组成的片剂和胶囊，即使崩解剂存在，在水中也是倾向于溶解而不是崩解。有人指出，在溶解过程中，水起到增塑剂的作用<sup>[37]</sup>，这将会影响到崩解力的产生。此外，易于膨胀的可溶性材料会形成黏性塞，从而会阻碍水分向基质的渗透。然而，尽管基质具有可溶性，崩解剂的加入几乎都会缩短崩解时间。

## 5. 崩解剂在颗粒中的加入方式

在颗粒中加入崩解剂的方式存在争议，崩解剂是存在

于粒子间还是粒子内,或者两者兼而有之?据 Shotton 和 Leonard<sup>[38]</sup>报道,玉米淀粉、海藻酸盐、褐藻酸以及其他崩解剂加到磺胺嘧啶颗粒间比加在颗粒内崩解要快。他们同时也指出后一种加入方式分散更好,而且指出最好的折中方法就是在颗粒内外均加入崩解剂。

Van Kamp 等<sup>[39]</sup>评价了以乳糖颗粒制成的强的松片剂中 Primojel®、AcDiSol® 以及 Polyplasdone XL® 的加入方法,结果发现超级崩解剂无论是内加、外加还是内外平均分布,其崩解时间、耐压程度和溶出均无明显不同。有趣的是,用马铃薯淀粉所得的结果不同,这一差别与早期 Shotton 和 Leonard<sup>[38]</sup>的不符,即颗粒内部的淀粉比颗粒外的更有效(见表3)。据 Gordon 等的报道<sup>[40]</sup>,一种在胃 pH 介质中不溶的药物萘普生,当 AcDiSol® 分布在颗粒内时,萘普生的溶出要比其分布在颗粒间或平均分布在颗粒内外时快得多。甚至最近,据 Khattab 等<sup>[41]</sup>报道显示,扑热息痛中崩解剂(羧甲基淀粉钠、交联羧甲基纤维素和交联聚维酮)采用内外加法比单独的内加或外加法崩解速率明显加快。

表3 崩解剂在颗粒中的加入方法对片剂性质的影响<sup>[39]</sup>

崩解剂	抗压强度/kgf <sup>1)</sup>			崩解时间/s		
	内加	内外加	外加	内加	内外加	外加
对照		6.5			664	
4%Primojel®	5.3	5.0	5.8	38	41	49
4%Ac Di Sol®	3.8	4.8	5.7	110	126	148
4%Nymcel zsd 16®	4.0	4.3	6.5	499	540	488
4%Polyplasdone XL®	5.8	6.0	6.1	31	40	43
20%马铃薯淀粉	3.3	3.4	2.1	69	80	110

1) 1kgf=9.806 65N。

表4 不同研究者对崩解剂不同加入方法与片剂、胶囊崩解效率的影响的研究结果比较<sup>[38,41]</sup>

研究者	药物 (D) 黏合剂 (B) 填充剂 (F)	评价的崩解剂	崩解效率排序	备注
Shotton 等	磺胺嘧啶 (D)	玉米淀粉	外加>内加	外加崩解更快,但内加得到的颗粒更细,推荐内外同时加
	PVP (B)	海藻酸钙钠		
	无填充剂	海藻酸		
		微晶纤维素		
Van Kamp 等	强的松 (D)	玉米淀粉	内加>外加	超级崩解剂的加入方法对于崩解影响不大
	明胶 (B)	Primojel®	内加>内外加>外加	
	乳糖 (F)	Polyplasdone XL®	外加>内加>内外加	
		Nymcel®	内外加>外加>内加	
Khattab 等	扑热息痛 (D)	交联羧甲基纤维素钠	内外加>外加>内加	崩解剂内外同时加时崩解和溶出更快
	PVP (B)	羧甲基淀粉钠	内外加>外加或内加	
	无填充剂	交联聚维酮	内外加>内加>外加	

有必要进行更多的研究去阐明其他因素的影响,这些因素包括黏合剂的类型、填充剂的类型以及骨架的溶解性,这些因素在很大程度上影响到崩解剂不同加入方式的效果。例如,Becker 等<sup>[42]</sup>发现,在扑热息痛片剂中,当黏合剂为麦芽糊精(Licab DSH®)、预胶化玉米淀粉(Lycab PGS®)或低取代羟丙基甲基纤维素(L-HPC)时,颗粒外加交联聚维酮就会比当黏合剂为PVP或HPMC时崩解更好。此外,Shotton 和 Leonard<sup>[38]</sup>研究的不同加入方式的淀粉的效力与 Van Kamp 等<sup>[39]</sup>的研究结果有差异,原因是其中有无填充剂乳糖的存在。与 Shotton 和 Leonard 的研究不同, Van Kamp 使用乳糖作为可溶性的填充剂,会降低颗粒外淀粉的效力,从而使颗粒内加入更有利。

由表4的总结可以看出,试图得出崩解剂在颗粒中加入方法哪种更好很困难。但从数据的整体来看,崩解剂采用内外加入法将会使崩解更加有效。

## 6. 返工影响

有人对重新压制含有超级崩解剂的湿的微晶纤维素基质对膨胀动力学的影响进行了研究<sup>[43]</sup>。当崩解剂采用外加法时,仅 Explotab®在重整后能够保持良好的崩解效率。当崩解剂采用内加法时,所有崩解剂的返工效率与没有崩解剂存在时相等。对于 Polyplasdone XL®来说,在二次压制之前采用外加法加入2%的崩解剂能够保留崩解行为。但对于 AcDiSol®,只能使部分崩解行为得以保持。进一步对含有2%外加崩解剂的返工片剂进行研究结果发现<sup>[44]</sup>,虽然在各种情况下最大膨胀力均减小,但是片剂的崩解时间几乎不受影响,如表5所示。

表 5 超级崩解剂的返工效率<sup>[44]</sup>

崩解剂 (2%)	相对 $F_s$ (35%孔隙率) <sup>1)</sup>	相对 $F_s$ (40%孔隙率) <sup>1)</sup>	%RE <sup>2)</sup>
对照	0.842	0.848	45
Polypladone XL <sup>®</sup>	0.941	0.926	64
Explotab <sup>®</sup>	0.737	0.863	86
AcDiSol <sup>®</sup>	1.045	0.951	45

1)  $F_s$  = 第一次压制时的最大崩解力/第二次压制时的最大崩解力。

2) %RE = 第一次压制时的 AUC/第二次压制时的 AUC, AUC 为崩解时间对压力图的曲线下面积。

7. 灌入硬胶囊

超级崩解剂在硬胶囊直接粉末灌装中所起的作用类似于可直接压片片剂处方中崩解剂所起的作用。在一项研究中,使用一种叫 Zanası LZ64 的仪器,在一定的压力下填充胶囊,测定含有氢氯噻嗪和不同崩解剂的磷酸氢钙基质处方的溶出时间<sup>[45]</sup>,结果表明,在促进氢氯噻嗪溶出方面,交联羧甲基纤维素比羧甲基淀粉钠更有效,而交联聚维酮在这方面作用最弱。在随后的多因素考察中,发现所有主要因素(包括崩解剂的类型、压力、润滑剂的用量以及填充剂类型)对片剂的溶出均有显著的作用(图 12 和图 13)<sup>[46]</sup>。大多数情况下,较低的崩解剂浓度,通过增大填充力能改善氢氯噻嗪的溶出速率,这主要是由于孔隙率减小所致。当把填充剂乳糖换成磷酸氢钙时,崩解剂作用效果排序就会发生改变。

与片剂相同,崩解剂在快速可溶性胶囊基质中所起的效率要低于水不溶性基质。也许对于胶囊剂,崩解剂的浓度应加大为正常情况下片剂使用浓度的 2 倍才能有效地促进崩解,而且还会很大程度地影响到胶囊的溶出。需要更高的崩解剂浓度可能反映出硬胶囊与压缩片比起来有更高的孔隙率。在乳糖和磷酸氢钙体系中,当崩解剂浓度相同时,羧甲基淀粉钠和交联羧甲基纤维素钠比交联聚维酮更能促进氢氯噻嗪的溶出<sup>[47]</sup>。不管填充剂类型如何,崩解时间和膨胀力均与溶出相关。

新的崩解剂

结冷胶和黄原胶 SM<sup>®</sup> 的性质和作用与超级崩解剂类似。结冷胶是由线性的四糖组成的阴离子多聚糖,从假单胞菌衍生而来<sup>[48]</sup>。当 4% 的结冷胶用于布洛芬片剂时,崩解时间为 4min,这要比用干淀粉或 Avicel PH102<sup>®</sup> (>15min)优越得多。用 Explotab<sup>®</sup>、AcDiSol<sup>®</sup> 和 Kollidon CL<sup>®</sup> 时,崩解时间为 4~7min。

黄原胶 SM<sup>®</sup> 是由美国药典新收录的黄原胶衍生物,它具有较高的亲水性和较低的凝胶化倾向<sup>[49]</sup>。含 3% 黄原胶 SM<sup>®</sup> 的阿司匹林片剂的崩解时间约 10min。增大崩解剂的

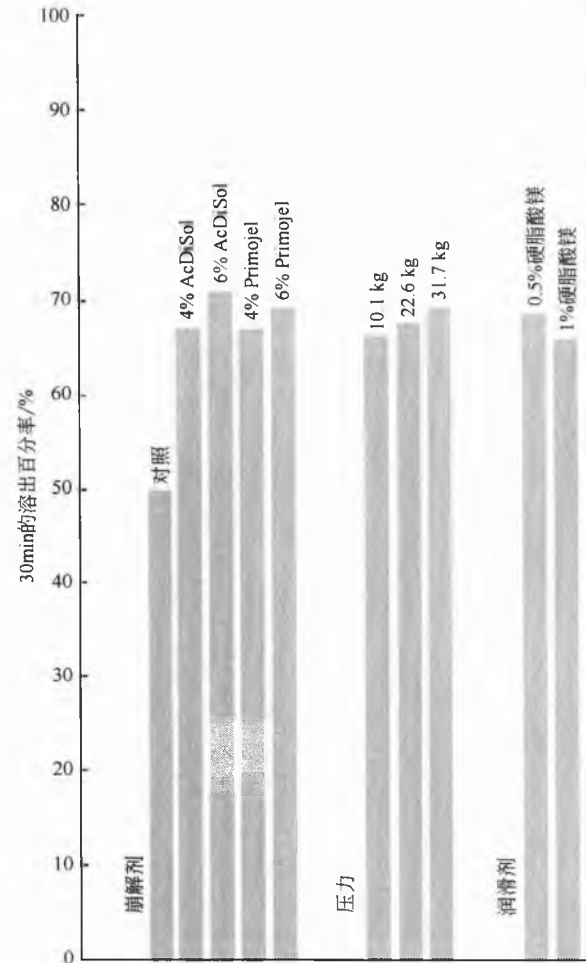


图 12 崩解剂、压力和润滑剂对于氢氯噻嗪从无水乳糖基质胶囊中溶出的影响<sup>[47]</sup>。对照组不加崩解剂<sup>[47]</sup>

浓度使其超过 3% 时,崩解时间没有改进。AcDiSol<sup>®</sup> 的最有效浓度为 5%,此时的崩解时间小于 5min。黄原胶 SM<sup>®</sup> 水溶性像 AcDiSol<sup>®</sup> 一样较低,但在水中更易膨胀。

小结

总之,超级崩解剂是一种能够促进口服固体制剂快速崩解以加快其体内溶出的赋形剂。常见的超级崩解剂有羧甲基淀粉钠、交联羧甲基纤维素钠和交联聚维酮。超级崩解剂与传统的淀粉相比,其在很小的浓度就具有很强的崩解性能。这一特点给制剂工作者带来很大的方便,特别是当其应用在直接压片中时。然而,淀粉和超级崩解剂的作用效果很大程度上还依赖于片剂的组成、压片力、制粒以及加入的方法。

由于许多复杂因素的存在,对超级崩解剂的作用机制还不能完全了解。崩解剂已有的崩解机制包括毛细管作用、膨胀作用、变形恢复、粒子间的斥力作用以及润湿热。吸水是所有作用机制进行的先决条件。虽然并不是所有的机

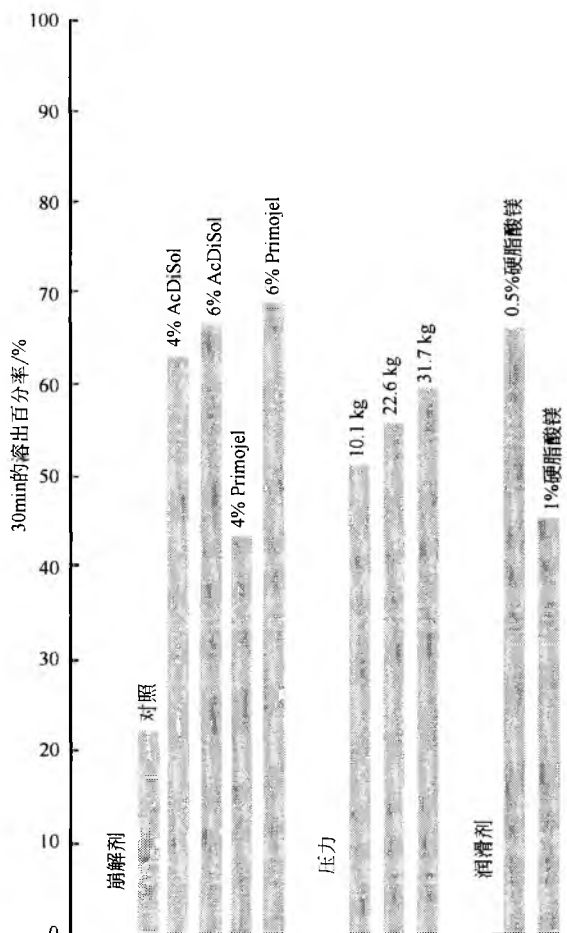


图 13 崩解剂、压力和润滑剂对于氢氯噻嗪从磷酸氢钙基质胶囊中溶出的影响<sup>[47]</sup>。对照组不加崩解剂<sup>[47]</sup>

制都已得到很好的证实，崩解剂可能是通过多重机制起作用的，但每种崩解剂均有一种主要的机制。不管它们的正确性如何，所有被提出的机制至少都有在基质中产生崩解力的可能，这看起来是一个统一在一起的概念。

### 参考文献

1. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Ed.; American Pharmaceutical Association; Washington, DC, 1994; 141—144, 462—466.
2. Bolhuis, G. K.; Van Kamp, H. V.; Lerk, C. F. Effect of Variation of Degree of Substitution, Crosslinking, and Purity of the Disintegration Efficiency of Sodium Starch Glycolate. *Acta Pharm. Tech.* 1984, 30, 24—32.
3. Shangraw, R. F.; Mitrevej, A. M.; Shah, M. N. A New Era of Tablet Disintegrants. *Pharm. Tech.* 1980, 4, 49—57.
4. Shah, U. S. Evaluation of the Functional Equivalence of Different Sources of Super Disintegrants in Pharmaceutical Tablets; University of Maryland; Baltimore, 1996;

16—26, 92—112.

5. Kornblum, S. S.; Stoopak, S. B. A New Tablet Disintegrating Agent: Cross-Linked Polyvinylpyrrolidone. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62, 43—49.
6. Rudnic, E. M.; Kanig, J.; Rhodes, C. T. The Effect of Molecular Structure on the Function of Sodium Starch Glycolate in Wet Granulated Systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1983, 9, 303—320.
7. Washburn, E. W. The Dynamic of Capillary Flow. *Phys. Rev.* 1921, 17, 273—283.
8. Rudnic, E. M.; Lausier, J. M.; Chilamkarti, R. N.; Rhodes, C. T. Studies of the Utility of Cross-Linked Polyvinylpyrrolidone as a Tablet Disintegrant. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1980, 6, 291—309.
9. Grai, E.; Ghanem, A. H.; Mahmoud, H. Studies of the Direct Compression of Pharmaceuticals. *Pharm. Ind.* 1984, 46, 279—284.
10. Van Kamp, H. V.; Bolhuis, G. K.; De Boer, A. H.; Lerk, C. F.; Lie-A-Huen, L. The Role of Water Uptake on Tablet Disintegration. *Pharm. Acta Helv.* 1986, 61, 22—29.
11. Lerk, C. F.; Bolhuis, G. K.; Smullenbroek, A. J.; Zuurman, K. Interaction of Tablet Disintegrants and Magnesium Stearate during Mixing. II. Effect on Dissolution Rate. *Pharm. Acta Helv.* 1982, 57, 282—286.
12. Nogami, H.; Nagai, T.; Fukuoka, E.; Sonobe, T. Disintegration of the Aspirin Tablets Containing Potato Starch and Microcrystalline Cellulose in Various Concentrations. *Chem. Pharm. Bull.* 1969, 17, 1450—1455.
13. Gissinger, D.; Stamm, A. A Comparative Evaluation of the Properties of Some Tablet Disintegrants. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1980, 6, 511—536.
14. List, P. H.; Muazzam, U. A. Swelling—The Driving Force Behind Disintegration. *Pharm. Ind.* 1979, 41, 1075—1077.
15. Chen, C. R.; Lin, Y. H.; Cho, S. L.; Yen, S. Y.; Wu, H. L. Investigation of the Dissolution Difference Between Acidic and Neutral Media of Acetaminophen Tablets Containing Super Disintegrant and a Soluble Excipient. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45, 509—512.
16. Mitrevej, A.; Hollenbeck, R. G. Photomicrographic Analysis of Water Vapor Sorption and Swelling of Selected Super Disintegrants. *Pharm. Tech.* 1982, 6, 48—50.
17. Caramella, C.; Columbo, P.; Conte, U.; Gazzaniga, A.; LaManna, A. The Role of Swelling in the Disintegration Process. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.* 1984, 5, 1—5.
18. Caramella, C.; Columbo, P.; Conte, U.; LaManna, A. Swelling of Disintegrant Particles and Disintegrating



- Force of Tablets. *Labo-Pharma. Probl. Tech.* 1984, 32, 115—119.
19. Caramella, C.; Columbo, P.; Conte, U.; LaManna, A. Tablet Disintegration Update; The Dynamic Approach. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1987, 13, 2111—2145.
20. Hess, H. Tablets Under the Microscope. *Pharm. Tech.* 1978, 2, 38—57, 100.
21. Fassihi, A. R. Mechanisms of Disintegration and Compactibility of Disintegrants in a Direct Compression System. *Int. J. Pharm.* 1986, 32, 93—96.
22. Guyot-Hermann, A. M.; Ringard, J. Disintegration Mechanisms of Tablets Containing Starches. Hypothesis About the Particle-Particle Repulsive Force. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1981, 7, 155—177.
23. Matsumara, H. Studies on the Mechanism of Tablet Compression and Disintegration. IV. Evolution of Wetting Heat and Its Reduction by Compressional Force. *Yakugaku Zasshi* 1959, 79, 63—68.
24. List, P. H.; Muazzam, U. A. Swelling — A Driving Force in Tablet Disintegration. *Pharm. Ind.* 1979, 41, 1075—1077.
25. Caramella, C.; Ferrari, F.; Conte, U.; Gazzaniga, A.; LaManna, A.; Colombo, P. Experimental Evidence of Disintegration Mechanisms. *Acta Pharm. Tech.* 1989, 35, 30—33.
26. Luangtana-anan, M.; Catellani, P. L.; Colombo, P.; Dinavand, R.; Fell, J. T.; Santi, P. The Role of Bond Weakening by Liquids in the Disintegration of Tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1992, 38, 169—171.
27. Brzezko, A. W. Ph. D. Dissertation; A Critical Evaluation of Tablet Disintegration Processes; University of Maryland; Baltimore, 1989; 129—172, 237—255.
28. Peppas, N. A. Energetics of Tablet Disintegration. *Int. J. Pharm.* 1989, 51, 77—83.
29. Caramella, C.; Colombo, P.; Conte, U.; Ferrari, F.; Gazzaniga, A.; LaManna, A.; Peppas, N. A. A Physical Analysis of the Phenomenon of Tablet Disintegration. *Int. J. Pharm.* 1988, 44, 177—186.
30. Smallenbroek, A. J.; Bolhuis, G. K.; Lerk, C. F. The Effect of Particle Size of Disintegrants on the Disintegration of Tablets. *Pharm. Weekbld.* 1981, 116, 172—175.
31. Schwartz, J. B.; Zelinski, J. A. The Binding and Disintegrant Properties of the Corn Starch Fractions; Amylose and Amylopectin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1978, 4, 463—483.
32. Shah, N. H.; Bekersky, I.; Jarowski, C. I. Carboxymethylcellulose: Effect of the Degree of Polymerization and Substitution on Tablet Disintegration and Dissolution. III. Urinary Salicylate from Rapid and Controlled Release Formulas; Program and Abstracts, APhA. Acad. Pharm. Sci. Mtg., IPT Section, Nov 17, 1983; American Pharmaceutical Assoc. Washington, DC, 1983; 34—35.
33. Khan, K. A.; Rhodes, C. T. Disintegration Properties of Calcium Phosphate Dibasic Dihydrate Tablets. *J. Pharm. Sci.* 1975, 64, 166—168.
34. Khan, K. A.; Rhodes, C. T. Effect of Variation in Compaction Force on Properties of Six Direct Compression Tablet Formulations. *J. Pharm. Sci.* 1976, 65, 1835—1837.
35. Munoz, N.; Ferrero, C.; Munoz-Ruiz, A.; Velasco, M. V.; Jimenez-Castellanos, M. R. Effect of Explotab® On the Tabletability of a Poorly Soluble Drug. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1998, 24, 785—791.
36. Ferrero, C.; Munoz, N.; Velasco, M. V.; Munoz-Ruiz, A.; Jimenez-Castellanos, R. Disintegrating Efficiency of Croscarmellose Sodium in a Direct Compression Formulation. *Int. J. Pharm.* 1997, 147, 11—21.
37. Murthy, K. S.; Ghebre-Sellassie, I. Current Perspectives on the Dissolution Stability of Solid Oral Dosage Forms. *J. Pharm. Sci.* 1993, 82, 113—126.
38. Shotton, E.; Leonard, G. S. Effect of Intragranular and Extragranular Disintegrating Agents on Particle Size of Disintegrated Tablets. *J. Pharm. Sci.* 1976, 65, 1170—1174.
39. Van Kamp, H. V.; Bolhuis, G. K.; Lerk, C. F. Improvement by Super Disintegrants of the Properties of Tablets Containing Lactose, Prepared by Wet Granulation. *Pharm. Weekbld. Sci. Ed.* 1983, 5, 165—171.
40. Gordon, M. S.; Chatterjee, B.; Chowhan, Z. T. Effect of the Mode of Croscarmellose Sodium Incorporation on Tablet Dissolution and Friability. *J. Pharm. Sci.* 1990, 79, 43—47.
41. Khattab, I.; Menon, A.; Sakr, A. Effect of Mode of Incorporation of Disintegrants on the Characteristics of Fluid-Bed Wet-Granulated Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1993, 45, 687—691.
42. Becker, D.; Rigassi, T.; Bauer-Brandl, A. Effectiveness of Binders in Wet Granulation: A Comparison Using Model Formulations of Different Tabletability. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23, 791—808.
43. Gould, P. L.; Tan, S. B. The Effect of Recompression on Disintegrant Efficiency in Tablets Prepared by Wet Granulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11, 441—460.
44. Gould, P. L.; Tan, S. B. The Effect of Recompression on the Swelling Kinetics of Wet Massed Tablets, Containing 'Super' Disintegrants. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11, 1819—1836.
45. Botzolakakis, J. E.; Small, L. E.; Augsburg, L. L. Effect of Disintegrants on Drug Dissolution from Cap-

C

- sules Filled on a Dosator-Type Automatic Capsule-Filling Machine. *Int. J. Pharm.* 1982, 12, 341-349.
46. Botzolakos, J. E.; Augsburger, L. L. The Role of Disintegrants in Hard-Gelatin Capsules. *J. Pharm. Pharmacol.* 1984, 36, 77-84.
47. Botzolakos, J. E.; Augsburger, L. L. Disintegrating Agents in Hard-Gelatin Capsules. Part I: Mechanism of Action. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1988, 14, 29-41.
48. Antony, P. J.; Sanghavi, N. M. A New Disintegrant for Pharmaceutical Dosage Forms. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23, 413-415.
49. Rizk, S.; Barthelemy, C.; Duru, C.; Guyot-Hermann, A. M. Investigation on a New Modified USP Xanthan with Tablet-Disintegrating Properties. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23, 19-26.
- 进一步阅读**
- Buckton, G. The Role of Compensation Analysis in the Study of Wettability, Solubility, Disintegration, and Dissolution. *Int. J. Pharm.* 1990, 66, 175-182.
- Caramella, C.; Colombo, P.; Conte, U.; Ferrari, F.; La Manna, A. Water Uptake and Disintegrating Force Measurements; Towards a General Understanding of Disintegration Mechanisms. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1986, 12, 1749-1766.
- Carstensen, J. T.; Chowan, Z. T. Correlation Between Tablet Disintegration and In Vitro Dissolution. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1980, 6, 569-571.
- Kanig, J. L.; Rudnic, E. M. The Mechanisms of Disintegrant Action. *Pharm. Tech.* 1984, 8, 50-63.
- Mahmoud, H. M.; El-Shaboury, M. H. Effect of Certain Tablet Ingredients on the Penetration Rate of Powder Beds. 1985, 94, 125-131.
- Nogami, H.; Fukuzawa, H.; Nakai, Y. Studies on Tablet Disintegration. I. The Effect of Penetrating Rate on Tablet Disintegration. 1963, 11, 1389-1398.
- Pesonen, T.; Paronen, P.; Ketolainen Disintegrant Properties of an Agglomerated Cellulose Powder. *Int. J. Pharm.* 1989, 57, 139-147.
- Shangraw, R. F.; Mitrevj, A.; Shah, M. N. A New Era of Tablet Disintegrants. *Pharm. Tech.* 1980, 4, 49-57.

(王莉莉 译)

## 超声波雾化器

Kevin M. G. Taylor

University of London, London, United Kingdom

Orla McCallion

Vandsons Research, Islington, London, United Kingdom

## 引言

超声波雾化器使用超声波能量使液体（通常为水溶液）转变成可供吸入的气雾剂。常用于 $\beta_2$ -受体激动剂、皮质类固醇、抗过敏药、抗胆碱能药、抗病毒药和黏液溶解剂的呼吸道给药<sup>[1]</sup>。新的发明增加了超声波雾化器和压缩空气雾化器的使用；和传统的模型相比，新的雾化装置不仅具有可携带性，而且其产生的气溶胶具有可呼吸比例（可达到肺部深处）高以及药物输出量高的特点。在正常的呼吸期间雾化的药物可通过口腔罩或面罩吸入，适合住院患者、老人、儿童及有关节炎的患者使用，他们使用其他装置较为困难。对于不便于制成定量吸入气雾剂（pMDIs）或干粉吸入剂（DPIs）的药物，或因治疗剂量太大而无法使用这些系统时，雾化器为理想的给药系统。

超声波雾化器出现于 20 世纪 60 年代，起先用于呼吸道病房空气增湿<sup>[2]</sup>。通常，超声波雾化器比常用于产生气溶胶的压缩空气雾化器具有较高的产雾量，然而，所产生的气溶胶具有较大的微滴直径<sup>[3~7]</sup>。因此，超声波产生的大多数气溶胶的平均粒径不适合于肺部给药，雾滴不能有效到达肺泡区。然而，超声波雾化器产生的气溶胶微滴大小的分布通常窄于压缩空气雾化器产生的微滴大小的分布。但产生的气溶胶本质上是多分散相，与压缩空气雾化器一样，需要挡板将较大的微滴从产生的气溶胶中除去。因为超声波雾化器具有较高的产雾量，微滴浓度大，且与气流无关，故与压缩空气雾化器相比，雾化时间短。且由于操作模式较安静，对患者特别有吸引力。据报道，使用超声波雾化器支气管扩张药产生的响应与使用压缩空气雾化器及使用 pMDIs 的相当<sup>[8]</sup>。

## 气溶胶产生的机理

雾化液体所需的能量由压电晶体换能器产生，通常为一个在高频（1~3MHz）下振动的合成陶瓷材料。当接上交电流时，压电晶体收缩和伸展，产生的振动既可以直接地也可通过耦合液体（通常为水）传送到雾化液体。液体表面产生液体喷泉，从喷泉顶部产生大液滴，而从喷泉底部产生“雾”状小液滴。

图 1 说明超声波雾化器使液体分散并产生气溶胶的两种机理<sup>[9]</sup>。表面张力波理论说明了大量液体中的表面张力

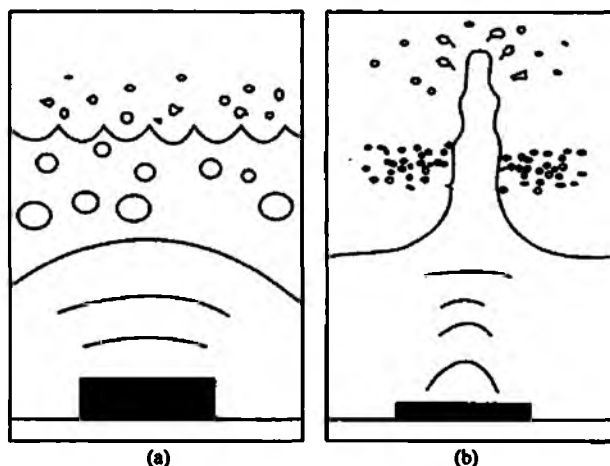


图 1 超声波雾化器雾化机理。(a) 在低频下空气气泡的形成；(b) 在高频下表面张力波的形成<sup>[9]</sup>

波的形成。这些波互相干涉而形成波峰和中央喷泉。当应用的能量足够高时，表面张力波的顶峰断裂，形成液滴。产生表面张力波的速度取决于雾化液体的理化性质和超声波振动的强度。Mercer<sup>[3]</sup>使用方程（1）计算产生表面张力波的强度阈值：

$$A = 4 \frac{\nu}{\lambda} \quad (1)$$

式中：A 为强度阈值； $\nu$  为液体的运动黏度； $f$  是声波频率； $\lambda$  为表面张力波的波长。当强度超过临界值的 4 个数量级时即形成液滴。Lang<sup>[10]</sup>解释，从薄液层产生的平均液滴大小与液体表面的张力波的波长成正比。因子实验值为 0.34，液滴直径 D 由方程（2）给出：

$$D = 0.34\lambda \quad (2)$$

式中：D 为数均粒径； $\lambda$  为张力波波长。Lobdell<sup>[11]</sup>根据这些研究结果，计算出其比例常数的理论值为 0.36。张力波波长可从开尔文公式（方程 3）中计算出。

$$\lambda = (8\pi\gamma/\rho f^2)^{1/3} \quad (3)$$

式中： $\gamma$  为表面张力； $\rho$  为密度； $f$  为声频。当  $\gamma$  的单位为 mN/m (dyn/cm)， $\rho$  的单位为 g/cm<sup>3</sup>， $f$  的单位为 MHz 时，则  $\lambda$  的单位为  $\mu\text{m}$ 。实验导出值与计算值间存在良好的相关性<sup>[12]</sup>。

气雾产生的第二种机理为基于压电结晶在低频下运行使液体产生振动，这导致空化气泡的形成并转移到气-液界面<sup>[13]</sup>。当气泡内压力与大气压达到平衡时，就引起爆裂。

当这种爆裂发生在液体表面时,部分液体脱离搅动的原液体发生破裂,形成雾滴。已证实,振动频率为 0.5~2.0MHz 时,空化现象导致雾化<sup>[14,15]</sup>。Boguslavskii 和 Eknadosyants<sup>[16]</sup> 结合上述理论提出,液滴的形成开始由表面张力波起作用,而后由空化气泡促成。

## 雾化器设计

超声波雾化器有很多种基本设计,在压电结晶换能器、雾化储缸、挡板和辅助的气流系统等方面有所不同(图 2)<sup>[9]</sup>,一旦雾化液中产生气雾,即从雾化储缸转移,可供患者使用。超声波的雾化器每单位体积能生产大量的液滴,在装置缺少循环空气的情况下,趋向于凝结和沉积。较大的液滴撞击在挡板上或储雾缸表面,在重力的作用下回到储液表面而循环使用,而较小的液滴在内置风扇的帮助下(例如,Medix Electronic<sup>®</sup>, Easimist<sup>®</sup>),或者通过雾状传输(例如,DeVilbiss Pulmosonic<sup>®</sup>)进入患者的吸气流。储液液体表面的空气速度影响液滴大小和液滴输出速率,因此可通过调节风扇转速(和流量节制器)进行改变。例如,改变 Sonix 2000<sup>®</sup> (Medix) 超声波雾化器的风扇速度设定,能使液滴输出速率在每 6 分钟 1mL 与每分钟 1mL 之间转换。影响产雾量和液滴大小的重要设计特性列于表 1 中。

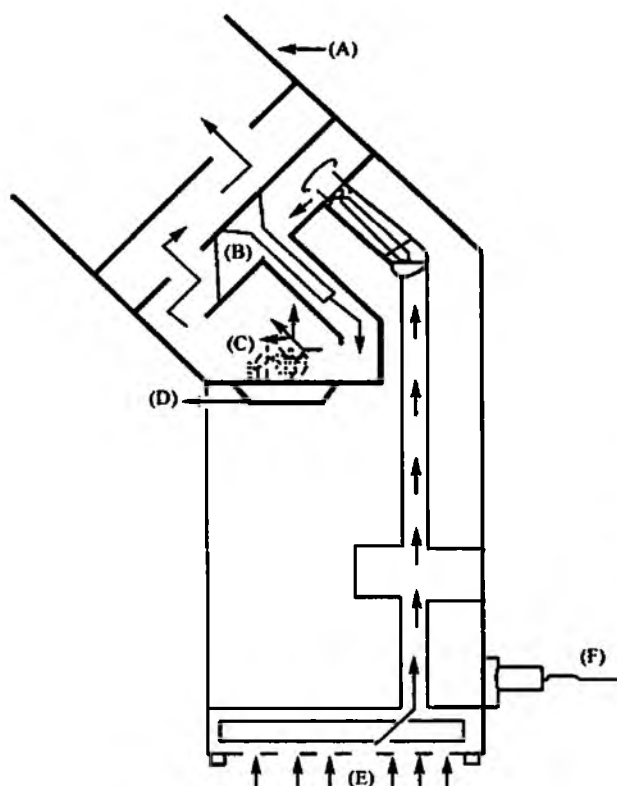


图 2 典型的超声波喷雾器的原理图。(A) 面罩或口腔罩; (B) 挡板; (C) 呼吸用溶液或混悬液的喷嘴; (D) 压电结晶; (E) 内部风扇; (F) 电池或电源<sup>[9]</sup>

表 1 决定颗粒大小分布和产雾量的超声波雾化器的设计特性<sup>[7]</sup>

设计特性	雾化器特征
压电结晶	振动频率
	振幅
	表面形状(平面或曲面)
	晶体与液体间的偶合
储液罐	大小
	形状
	挡板
辅助的气流系统	流速

压缩空气雾化器通常为一次性的或无菌的,与此相反,超声波雾化器太贵,不能一次性使用,需要重复使用<sup>[17]</sup>,因而具有细菌污染的危险<sup>[18]</sup>,清洗雾化器及其连接管有一定难度,有报道称发现 G-细菌在雾化器和患者间传染<sup>[19]</sup>。

尽管大多数超声波装置具有共同的基本设计特征,一些新颖的装置也已经开发出来了。Boehringer Ingelheim 公司的 Respimat<sup>®</sup> 采用一种类似于 pMDIs 的阀门,直接定量释放至压电晶体 (2.5 MHz) 表面,所产生的颗粒的平均空气动力学直径 (MMAD) 接近 10 $\mu$ m,一般认为该尺寸对于有效的吸入疗法来说过大,但据称与相同的 pMDI 处方相当<sup>[20]</sup>。

Bespak Piezo Electric Actuator<sup>®</sup> 是一种新的液雾给药系统,基于压电晶体和电铸网(图 3)的组合。它从单剂量定量液滴或储液罐中液体产生大小“可调节”的液滴<sup>[21]</sup>。网眼孔直径(小至 3 $\mu$ m)决定产生的液滴大小,而孔的大小和多少控制液体释药的速率。这些参数能根据处方改变,尽管溶液更容易雾化,但如果混悬液的粒子比网眼小 2~3 倍,混悬液也能被雾化。

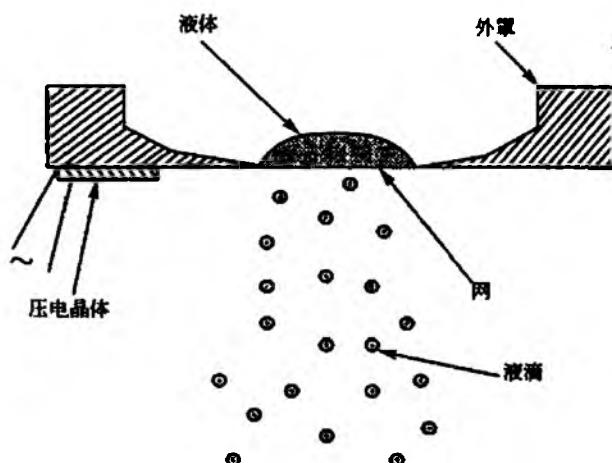


图 3 Bespak Piezo Electric Actuator<sup>®</sup> 喷嘴的原理图

最近, The Technology Partnership 公司已经制作了几种新形式的穿孔网眼雾化器,称为 TouchSpray<sup>®</sup><sup>[22]</sup>。TouchSpray<sup>®</sup> 装置不要求混悬处方中粒子很小就能将其雾

化。此外,它们能从大的网眼孔中产生小液滴。例如,TouchSpray<sup>®</sup>能制得 $5\mu\text{m}$ 大小的微粉化的药物的混悬液(通常为 $3\mu\text{m}$ 或更大),这些液滴是能用 $15\mu\text{m}$ 的网眼孔装置产生的。TouchSpray<sup>®</sup>能雾化液体产生较小的液滴。穿孔网眼装置的发展已由Humberstone等进行了综述<sup>[23]</sup>。TouchSpray<sup>®</sup>装置产生的可吸入液雾由图4所示。



图4 TouchSpray<sup>®</sup>装置产生的吸入剂液滴喷雾流

将来的装置有可能是超声波雾化器技术和pMDI或DPI技术的结合。整合进pMDIs后,振动换能器或格栅能打破由推进剂产生的大液滴,这些本来是会浪费掉的,打破后可供吸入。同样,DPI本来依靠患者产生的强烈的空气流来将粉末解聚,此时可利用吸入装置内的振动元件或静电产生气雾(如Dura公司的Spiros<sup>®</sup>),使粉末更容易解聚。

## 气雾剂的液滴大小

治疗性吸入气雾剂的效能取决于其穿过呼吸道的能力,而这主要取决于颗粒或微滴的粒度大小。要通过外周呼吸道气管,一般要求其粒径小于约 $5\sim 6\mu\text{m}$ ,而小于约 $2\mu\text{m}$ 的气溶胶最利于在肺泡沉积<sup>[24,25]</sup>。

体外测定气雾剂液滴的大小常用于预测其临床特性。雾状气溶胶通常采用多级液体撞击器(MSLI)、圆盘撞击器(cascade impactor)或激光衍射法测定其粒径。MSLI和圆盘撞击器包含一系列逐渐变细的喷射口和收集板,依照其MMADs将气溶胶分级<sup>[26]</sup>。使用圆盘撞击器测定雾化气

溶胶存在的问题是,采用的高流速气体(大多为 $28\sim 90\text{ L/min}$ )使溶剂快速蒸发及液滴被气体带走。另外,这些惯性碰撞技术是破坏性的,工作量较大且耗时。激光衍射分析仪采用一束激光通过雾化的气溶胶来测定其雾滴大小。利用产生的衍射花纹可以计算体积或质量平均粒径。已知液体的密度,则可计算出MMAD。

很多研究者比较了采用超声波和压缩空气雾化装置产生的气溶胶的液滴大小<sup>[3,4,6,27~31]</sup>。因为液滴大小与声频成反比,高频率的超声波装置产生小液滴的气溶胶。高频率( $2\sim 3\text{ MHz}$ )的超声波喷雾器能形成与箭状压缩空气喷射装置一样大小的液滴。但是低频率的超声波装置( $0.5\text{ MHz}$ )产生的液滴在可吸入范围之外<sup>[4,32]</sup>。市场上大多适用的超声波喷雾器的操作频率为 $1\sim 2\text{ MHz}$ 。尽管超声波喷雾器产生的气溶胶液滴直径显著大于由压缩空气喷雾器产生的液滴的直径<sup>[3,4]</sup>,但其大小比较集中<sup>[3,33]</sup>。

## 雾化时间、药物输出量及残留体积

患者使用雾化治疗方法的依从性主要取决于治疗的持续时间。喷雾器内液体的雾化可以在指定的时间内完成,或者更通俗的说法,雾化一定量治疗用液体至“干”,完成这过程的时间直接与给药液体的体积有关。然而,并非喷雾器内的所有液体都可以被雾化,一些与挡板、内部结构和喷雾器的壁有关的剩余液体称为“死体积”或“残留体积”<sup>[34]</sup>。装量体积越小,患者不能使用的残留液体比重较大。

一般超声雾化装置在每单位时间内的产雾量比压缩空气喷雾器的产雾量大得多。尽管Sterk等<sup>[4]</sup>报道通过超声雾化装置的气流高时,每单位体积内的液滴浓度比压缩空气喷雾器的低,但最近的研究结果表明,在现代的超声波装置中减少稀释空气体积将得到更高的气云浓度。超声波喷雾器可能的残留液体体积比压缩空气喷雾器的高<sup>[35]</sup>,但在使用过程中储雾室内药物浓度增加的趋势也较小<sup>[27,29]</sup>。

Newman等<sup>[29]</sup>比较了DeVilbiss超声波雾化器和压缩空气雾化器。超声波雾化器具有较高的雾化量和较短的雾化时间。此外,压缩空气雾化器比超声波雾化器易增加储雾室内药物浓度。从喷雾器中产生的雾化量包含药物溶液以及混悬液的液滴和溶剂的蒸气,以使外来的空气达到饱和,从而引起溶质浓度在雾化过程中增加。与压缩空气雾化器相比,因为超声波喷雾器通常有比较高的雾化量和较大的液滴,因此有更多的溶剂密集气溶胶以饱和外来的空气。所以,死体积中溶质浓度的改变比压缩空气雾化器小。

## 热效应

雾化器里多余的能量转换为热,引起储液罐中液体温度上升,直到输入的能量与通过蒸发和传导给周围环境及循环空气的能量达到平衡<sup>[12]</sup>。因此,在使用过程中,超声波雾化器内液体的温度可能高过室温 $20^\circ\text{C}$ <sup>[6,36]</sup>。由此导致

液体性质方面的改变,包括表面张力和黏度。虽然这些变化可能影响气溶胶粒度大小特性以及总的药物输出量,但在下列两种情况下几乎没有变化:延长 Medix Elecxtronic 和 Easimist<sup>[37]</sup>雾化器时操作时间或通过加粗线圈提高 DeVilbiss 雾化器时的温度<sup>[38]</sup>。

升温可能有益。例如,在使用过程中,空气压缩雾化器内液体的温度约降低 10~15℃<sup>[34,39]</sup>,导致一些气喘患者的支气管变窄<sup>[40]</sup>。支气管狭窄通常发生在 5℃,而在 37℃ 消失,因此,使用超声波雾化器时可以减少其发作。此外,当用于低溶解度的药物溶液时,使用可升温溶液的超声波雾化器要比使用空气压缩雾化器好<sup>[36]</sup>,因为空气压缩雾化器将使溶液冷却,可能引起沉淀<sup>[39]</sup>。然而,产生的热量可能使热不稳定物质受到损害,如二乙烯三氨基戊酸(<sup>99m</sup>Tc-/DTPA)<sup>[41]</sup>、蛋白质<sup>[31]</sup>以及一些抗生素溶液<sup>[42]</sup>。因此,雾化重组人去氧核糖核酸(rhDNase)溶液时,明确禁止使用超声波雾化器<sup>[1]</sup>。

## 雾化液的处方

雾化吸入治疗主要依靠吸入用溶液,该溶液的制备主要是将药物溶解在水溶液、等渗溶剂系统中,必要时含有共溶剂(例如乙醇)。混悬液很少用于雾化,尽管皮质类固醇类制剂如布地奈德也是可用的。处方中常使用抗氧化剂和抗菌剂防腐剂,但有些(如焦亚硫酸钠、氯化苯扎氯铵、EDTA)可能有似非而是的效应以及引起咳嗽和支气管狭窄<sup>[43]</sup>。为避免这些作用,市场上出现了“无防腐剂”的单剂量产品。调节等渗通常采用氯化钠。虽然常使用 pH 为 3~8 的等渗溶液,但在使用期间渗透压浓度和 pH 可能会发生变化,造成支气管痉挛<sup>[44]</sup>。

使用液体产生的气溶胶的粒径大小和产雾量特性不仅与液体的理化性质(密度、表面张力,黏性)有关,也与雾化器设计及操作条件有关。经验和半经验处方预示气溶胶的液滴大小与表面张力成正比,而与黏度成反比。在正常浓度范围内,密度的影响是可以忽略的。挡板的过滤效应以及溶剂的蒸发可以改善产生的二级气溶胶,但研究<sup>[32,37,45,46]</sup>发现黏性是气溶胶大小和产雾量特性的一个主要决定因素。高黏度液体对整个喷泉破裂过程的阻力较大,因此不仅产雾量低,而且产生的液滴粒径较大。Gershenzon 和 Eknadiosyants<sup>[14]</sup>注意到,低黏度液体得到较高的液滴产量。Boucher 和 Kreuter<sup>[32]</sup>则报道,对黏度超过 10 cP 的液体很难使用超声雾化。Gershenzon 和 Eknadiosyants<sup>[14]</sup>指出,对多种液体(除水外),其雾化速率取决于  $A^2$  与  $\pi\rho/\eta\sigma$  的比值,此处  $A$  为雾化速率,  $\rho$  为液体的蒸气压,  $\eta$  是黏性,  $\sigma$  是表面张力。

Il'in 和 Eknadiosyants<sup>[15]</sup>认为动力黏度系数是决定雾化速率的最重要的因子。四丁酚醛和 *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸溶液的雾化速率随溶液黏度的增加而逐渐减少。当雾化油状和黏性液体(如 Lipiodal<sup>®</sup>,一种放射性造影剂)时,产生液体的喷泉,而不裂解产生气溶胶。McCallion 等<sup>[37]</sup>报告了

相同的结果,他比较了多种不同模型的液体,发现超声波雾化器不能有效地雾化黏度较高的液体,且其总液体的雾化效率较差。此外,增加液体黏度,将产生较大的液滴。

因为表面张力表现为抵抗新的表面的形成,所以也是必须考虑的重要因素。这些张力通过阻止液体表面的扭曲作用或不规则形成,而进一步延迟喷泉的形成,从而降低雾化程度。在混悬液处方中,含有作为助悬剂的表面活性剂,这些试剂的加入,降低了液体的表面张力,可能降低雾化速率。其主要原因可能是表面张力波的降低,引起阈值<sup>[45]</sup>的增加,也可能是因为它们,影响了气体到孔洞气泡的扩散<sup>[47]</sup>从而导致阈值的增加。当雾化了大量的与药剂相关的表面活性剂系统后,会发现在研究的整个浓度范围内或浓度达到最大时,液滴大小和表面张力之间存在反比关系<sup>[33]</sup>。浓度最大值与表面张力或临界胶束浓度之间没有关系。在大部分的情形下,总液体产雾量不变。

大多数的喷雾器的处方是溶液,但也有一些皮质类固醇混悬液处方也在市场上销售。一般来说,在雾化混悬液给药方面,与压缩空气喷雾器相比超声喷雾器,效率低,变数多。对于肺部影像,使用超声喷雾器直接雾化溶解的放射性药品进行给药较为合适<sup>[48]</sup>,但 Lin 等<sup>[49]</sup>成功地将超声喷雾器雾化放射性同位素示踪(标记)的硫和锡胶体用于肺部成像。McCallion 等<sup>[50]</sup>使用压缩空气雾化器和超声喷雾器雾化了大量的胶乳球体混悬液,并没有发现混悬球体大小和雾化的液滴大小分布之间存在关系。据报道,较小的球体产雾量较高,同时,在残留液体中存在浓缩现象。被研究的超声喷雾器比压缩空气喷雾器的雾化效率低,并使一些大的球体降解,此外还不能雾化特定大小范围的混悬球体。

喷雾器,特别是压缩空气雾化装置,在脂质体的肺部给药中已被广泛地研究<sup>[51,52]</sup>。在使用超声波喷雾器过程中,储液罐中的液体温度将升高,这在脂质体给药时应避免,因为脂质体常表现为温度-药物释放依赖性。Barber 和 Shek<sup>[53]</sup>报道,使用 DeVilbiss Ultra-Neb 99<sup>®</sup> 超声波喷雾器雾化平均粒径为 281nm 或更小的卵磷脂脂质体时,该脂质体是稳定的,但喷雾器储液池里平均粒径为 499nm 的二棕榈酰磷脂脂质体粒径增加,表明其泡囊的溶解,这导致包封的亲水性材料的损失。随后的一项研究<sup>[54]</sup>表明,使用 Medix Electronic nebulizer 雾化过程中,大的多室卵磷脂脂质体的粒径显著性地减少,表明其泡囊分裂,在处方中加入胆固醇可减少这种现象。

与压缩空气喷雾器相比超声喷雾器不太适合于蛋白质的呼吸道给药,原因是蛋白质具有热敏感性。有研究者比较了八个压缩空气喷雾器和两个超声波雾化器,结果所有压缩空气喷雾器收集的气雾和残留液体中均保留了 rhDNase 酶活性<sup>[31]</sup>,而使用超声喷雾器时,到了雾化后期,液体的体积变小温度增加,此时有些酶已经变性。rhDNase 溶液的最高温度是 58℃,已接近酶的热变性温度(约 65℃)<sup>[31]</sup>。

Ip 等<sup>[55]</sup>研究了 DeVilbiss Aerosonic<sup>®</sup>、Mountain Medi-

cal Microstat® 和 Medix Electronic® 超声波雾化器用于重组  $\alpha$ -干扰素的雾化给药, 不同的雾化器引起蛋白质聚集的程度不同, Easimist 引起的聚集最轻而 Microstat 引起的聚集最严重。在使用期间冷却雾化器可减轻溶液温度的上升。Aerosonic® 雾化器在 20min 之后使乳酸脱氢酶完全失去活性<sup>[38]</sup>。失去活性的情况不同于使用压缩空气喷雾器的, 而与雾化液温度的增加及气溶胶产生有关。如果雾化液中加入吐温 80 或 PEG 8000, 则酶的活性几乎完全保留。

## 雾化器使用的指导原则和标准要求

英国胸科协会雾化器项目组 (The British Thoracic Society Nebulizer Project Group) 发表了一系列雾化器治疗的指导原则<sup>[18]</sup>, 其中与超声波雾化器有关的概括如下:

(1) 治疗的目标为在 5~10min 之内, 以可吸入粒子的气雾剂形式输送治疗剂量的药物。

(2) 当患者需要吸入大剂量的药物但因病太重而无法使用其他装置时, 以及药物不适合于用 pMDIs 和 DPI 给药时, 雾化器是十分有用的。

(3) 雾化器一般用于治疗急性严重哮喘或慢性阻塞性肺病 (COPD)。其他适应证包括慢性气流障碍的长期支气管扩张剂治疗, 哮喘的预防治疗, 囊性纤维化 (cystic fibrosis)、支气管扩张以及 HIV/AIDS 的抗微生物药物治疗以及姑息治疗中减轻症状。

(4) 当支气管扩张剂以外的药物被雾化时, 应使用适当的已知其输出能力的装备, 并且应该给患者进行特别的指导。这样的治疗应在医院专家指导下进行。

(5) 支气管扩张剂的雾化时间应在 10min 之内, 患者应熟悉装置的正确操作和雾化时间。

是否使用口腔罩或面罩取决于是否方便以及患者的选择。

目前,《美国药典》或《欧洲药典》还没有标准用于由压缩空气雾化器或超声波雾化器的雾化溶液或混悬液产生的可吸入输出特性的检查。如果雾化器想真的和 pMDIs 以及 DPI 竞争, 那么, 应建立测定死体积、装置中发出的雾化量、雾化时间及气雾的粒径分布等标准方法, 这应该是合乎逻辑的基本要求。

## 参考文献

1. British National Formulary 38, British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain: London, 2000.
2. Tovell, R. M.; D'Ambruso, D. C. Humidity in Inhalation Therapy. *Anesthesiology* 1962, 23, 452-459.
3. Mercer, T. T. Output Characteristics of Three Ultrasonic Nebulizers. *Chest* 1981, 80, 813-817.
4. Sterk, P. J.; Plomp, A.; Van der Vate, J. F.; Quanjer, P. H. Physical Properties of Aerosols Produced by Several Jet and Ultrasonic Nebulizers. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 1984, 20, 65-72.
5. Matthys, H.; Kohler, D. Pulmonary Deposition of Aerosols by Different Mechanical Devices. *Respiration* 1985, 48, 269-276.
6. Phipps, P. R.; Gonda, I. Droplets Produced by Medical Nebulizers: Some Factors Affecting Their Size and Solute Concentration. *Chest* 1990, 97, 1327-1332.
7. Hardy, J. G.; Newman, S. P.; Knoch, M. Lung Deposition from Four Nebulizers. *Respir. Med.* 1993, 87, 461-465.
8. Ballard, R. D.; Bogin, R. M.; Pak, J. Assessment of Bronchodilator Response to a  $\beta$ -Adrenergic Delivered from an Ultrasonic Nebulizer. *Chest* 1991, 100, 410-415.
9. Dalby, R. N.; Hickey, A. J.; Tiano, S. L. Medical Devices for the Delivery of Therapeutic Aerosols to the Lungs. *Inhalation Aerosols: Physical and Biological Basis for Therapy*; Hickey, A. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 441-473.
10. Lang, R. J. Ultrasonic Atomization of Liquids. *J. Acoust. Soc. Am.* 1962, 36, 6-8.
11. Lobdell, D. D. Particle Size-Amplitude Reactions for the Ultrasonic Atomizer. *J. Acoust. Soc. Am.* 1968, 43, 229-231.
12. Mercer, T. T.; Goddard, R. F.; Flores, R. L. Output Characteristics of Three Ultrasonic Nebulizers. *Ann. Allergy* 1968, 26, 18-27.
13. Sollner, K. The Mechanism of the Formation of Fogs By Ultrasonic Waves. *Trans. Faraday Soc.* 1936, 32, 1532-1536.
14. Gershenzon, E. L.; Eknadiosyants, O. K. The Nature of Liquid Atomization in an Ultrasonic Fountain. *Sov. Phys. Acoust.* 1964, 10, 156-162.
15. Il'in, B. I.; Eknadiosyants, O. K. Nature of Liquid Atomization in an Ultrasonic Fountain. *Sov. Phys. Acoust.* 1966, 12, 310-318.
16. Boguslavskii, Y. Y.; Eknadiosyants, O. K. Physical Mechanism of the Acoustic Atomization of a Liquid. *Sov. Phys. Acoust.* 1969, 15, 14-21.
17. Greenspan, B. J. Ultrasonic and Electrodynamical Methods of Aerosol Generation. *Inhalation Aerosols: Physical and Biological Basis for Therapy*; Hickey, A. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 313-335.
18. The Nebuliser Project Group of the British Society Standards of Care Committee. Current Best Practice for Nebuliser Treatment. *Thorax* 1997, 52 (Suppl. 2), S1-S106.
19. Rhoades, E. R.; Ringrose, R.; Mohr, J. A.; Brooks, L.; McKown, B. A.; Felton, F. Contamination of Ultrasonic Nebulization Equipment with Gram Negative Bacteria. *Arch. Intern. Med.* 1971, 127, 228-232.

20. Zierenberg, B. J. The Respirat, a New Inhalation System Based on the Piezoelectric Effect. *Biopharmaceut. Sci.* 1992, 3, 85—90.
21. Baker, P. G.; Stimpson, P. G. Electronically Controlled Drug Delivery Systems Based on the Piezo Electric Crystal. *Respir. Drug Del.* 1994, 4, 273—285.
22. Humberstone, V. C.; Newcombe, G. C. F.; Sant, A. J.; Palmer, M. R. Fluid Droplet Production Apparatus and Method. EP-615-470; 1994.
23. Humberstone, V. C.; Sant, A. J.; van Rensburg, R. J. Piezoelectric Aerosol Inhalers; Technology to Product. Conference Proceedings of New Horizons in Pulmonary Drug Delivery, Management Forum; London, October 1—2, 1996.
24. Stahlhofen, W.; Gebhart, J.; Heyder, J. Experimental Determination of the Regional Deposition of Aerosol Particles in the Human Respiratory Tract. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1980, 41, 385—398.
25. Newman, S. P.; Clarke, S. W. Therapeutic Aerosols. I. Physical and Practical Considerations. *Thorax* 1983, 38, 881—886.
26. Hallworth, G. W.; Andrews, H. G. Size Analysis of Suspension Inhalation Aerosols by Inertial Separation Methods. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 898—907.
27. Ferron, G. A.; Kerrebijn, K. F.; Weber, J. Properties of Aerosols Produced with Three Nebulizers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1976, 114, 899—908.
28. Ryan, G.; Dolovich, M. B.; Obminski, G.; Cockcroft, D. W.; Juniper, E.; Hargreave, F. E.; Newhouse, M. T. Standardization of Inhalation Provocation Tests; Influence of Nebulizer Output, Particle Size and Method of Inhalation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1981, 67, 156—161.
29. Newman, S. P.; Pellow, P. G. D.; Clarke, S. W. In Vitro Comparison of DeVilbiss Jet and Ultrasonic Nebulizers. *Chest* 1987, 92, 991—994.
30. Smalldone, G. C.; Perry, R. J.; Deutsch, D. G. Characteristics of Nebulizers Used in the Treatment of AIDS-Related Pneumocystis Carinii Pneumonia. *J. Aerosol Med.* 1988, 1, 113—126.
31. Cipolla, D. C.; Clarke, A. R.; Chan, H. -K.; Gonda, I.; Shire, S. J. Assessment of Aerosol Delivery Systems for Recombinant Human Deoxyribonuclease. *STP Pharm. Sci.* 1994, 4, 50—62.
32. Boucher, R. M. G.; Kreuter, J. The Fundamentals of the Ultrasonic Atomization of Medicated Solutions. *Ann. Allergy* 1968, 26, 591—600.
33. McCallion, O. N. M.; Taylor, K. M. G.; Thomas, M.; Taylor, A. J. The Influence of Surface Tension on Aerosols Produced by Medical Nebulizers. *Int. J. Pharm* 1996, 129, 123—136.
34. Clay, M. M.; Pavia, D.; Newman, S. P.; Lennard-Jones, T.; Clarke, S. W. Assessment of Jet Nebulizers for Lung Aerosol Therapy. *Lancet* 1983, 2, 592—594.
35. Flament, M. -P.; Leterme, P.; Gayot, A. T. Factors Influencing Nebulizing Efficiency. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1995, 21, 2263—2285.
36. Taylor, K. M. G.; Hoare, C. Ultrasonic Nebulisation of Pentamidine Isethionate. *Int. J. Pharm.* 1993, 98, 45—49.
37. McCallion, O. N. M.; Taylor, K. M. G.; Thomas, M.; Taylor, A. J. Nebulization of Fluids of Different Physicochemical Properties with Air-Jet and Ultrasonic Nebulizers. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1682—1688.
38. Niven, R. W.; Ip, A. Y.; Mittelman, S.; Prestrelski, S. J.; Arakawa, T. Some Factors Associated with the Ultrasonic Nebulization of Proteins. *Pharm. Res.* 1995, 12, 53—59.
39. Taylor, K. M. G.; Venthoye, G.; Chawla, A. Pentamidine Isethionate Delivery from Jet Nebulizers. *Int. J. Pharm.* 1992, 85, 203—208.
40. Lewis, R. A. Nebulizers for Lung Aerosol Therapy. *Lancet* 1983, 2, 849.
41. Waldman, D. L.; Weber, D. A.; Oberdörster, G.; Drago, S. R.; Utell, M. J.; Hyde, R. W.; Morrow, P. E. Chemical Breakdown of Technetium-99m DTPA During Nebulization. *J. Nucl. Med.* 1987, 28, 378—382.
42. Dennis, J. H.; Hendrick, D. J. Design Characteristics for Drug Nebulizers. *J. Med. Eng. Technol.* 1992, 16, 63—68.
43. Beasley, R.; Rafferty, P.; Holgate, S. T. Adverse Reactions to the Non-Drug Constituents of Nebuliser Solutions. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1988, 25, 283—287.
44. Schöni, M. H.; Kraemer, R. Osmolarity Changes in Nebulizer Solutions. *Eur. Respir. J.* 1989, 2, 887—892.
45. Davis, S. S. Physico-Chemical Studies on Aerosol Solutions for Drug Delivery I. Water-Propylene Glycol Systems. *Int. J. Pharm.* 1978, 1, 71—83.
46. Newman, S. P.; Pellow, P. G. D.; Clarke, S. W. Drop-sizes from Medical Atomisers (Nebulizers) for Drug Solutions with Different Viscosities and Surface Tensions. *Atom. Spray Tech.* 1987, 3, 1—11.
47. Kapustina, O. A. Effect of Surface Active Substances on Bubble Growth Kinetics in a Sound Field. *Sov. Phys. Acoust.* 1969, 15, 110—111.
48. Istiman, A. T.; Manoli, R.; Schmidt, G. H.; Holmes, R. A. An Assessment of Alveolar Deposition and Pulmonary Clearance of Radiopharmaceuticals After Nebu-



- lization. *Am. J. Roentgenol.* 1974, 120, 776—781.
49. Lin, M. S.; Hayes, T. M.; Goodwin, D. A.; Kruse, S. L. Distal Penetration in Radioaerosol Inhalation with an Ultrasonic Nebulizer. *Radiology* 1974, 112, 443—447.
50. McCallion, O. N. M.; Taylor, K. M. G.; Thomas, M.; Taylor, A. J. Nebulisation of Monodisperse Latex Sphere Suspensions in Air-Jet and Ultrasonic Nebulisers. *Int. J. Pharm.* 1996, 133, 203—214.
51. Farr, S. J.; Kellaway, I. W.; Parry-Jones, D. R.; Woolfrey, S. G. 99m-Tc as a Marker of Liposomal Deposition and Clearance in the Human Lung. *Int. J. Pharm.* 1985, 26, 303—316.
52. Taylor, K. M. G.; Taylor, G.; Kellaway, I. W.; Stevens, J. The Influence of Liposomal Encapsulation on Sodium Cromoglycate Pharmacokinetics in Man. *Pharm. Res.* 1989, 6, 633—636.
53. Barber, R. F.; Shek, P. N. Liposome Stability during Ultrasonic Nebulization. *Proceedings of the 33rd Harden Conference, The Biochemical Society, Ashford, UK, 1989; 53.*
54. Leung, K. K. M.; Bridges, P. A.; Taylor, K. M. G. The Stability of Liposomes to Ultrasonic Nebulisation. *Int. J. Pharm.* 1996, 145, 95—102.
55. Ip, A. Y.; Arakawa, T.; Silvers, H.; Ransone, C. M.; Niven, R. W. Stability of Recombinant Consensus Interferon to Air-Jet and Ultrasonic Nebulization. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 1210—1214.

(陈桂良 译)

C

# C

## 承包生产

Duncan E. McVean

Consultant, Solon, Ohio, U. S. A

### 简介

#### 1. 技术的改变

制药行业正发生令人振奋的改变。由于技术的进步, 制药行业的发展比以前更快。例如, 如今的科学家可以使用计算机来操作分子而无须进入实验室。使用计算机进行模拟, 他们可以设计适合细胞受体位点的分子。这些“设计”分子因此会产生所需的治疗效果。其他的科学家使用遗传技术拓展了治疗领域。通过给哺乳动物、昆虫和细菌细胞加入特殊的遗传物质, 将这些细胞进行培养就能产生激素和其他天然来源的、具有药理活性的药物分子, 能够治疗许多疾病。基因被插入到家畜的胚胎中; 在成年时, 这些动物能够分泌含药物成分的乳汁, 成为低成本的药物生产者。这些药物要么产量很少, 要么用其他方法生产费用很高。

#### 2. 公司核心业务的改变

为适应技术的变化, 许多公司的核心业务需要一些目前还不具备的能力, 而且许多企业已经认识到从基础研究到市场和销售均能做好, 在经济上不太现实。一些公司已经决定将资源完全投入研发。其他公司决定探索一个特殊领域。能继续做到各方面都好的公司越来越少。

#### 3. 外包的定义

原先制药行业盛行的模式是公司的纵向整合, 即公司完成业务所需的所有工作。现在的投资者要求持续的高经济效益。为了缩短药品上市的时间, 公司越来越多地注意到他们的核心竞争力。因此, “外包”成为完成业务的重要途径。外包是在合同的基础上利用不相关的公司来生产原料或为其他公司履行合同。

#### 4. 新的行业模式

外包产生了新的行业模式。这个模式给公司提供了新的机会, 通过转移固定成本为可变的成本来改善公司的盈亏底线。通过减少或取消本公司的生产量, 并用承包生产商取代本公司来实现。因此, 根据客户要求合成、生产化合物的中间体、有效成分和开发制剂的承包生产商在今天的商业行为中正变得越来越重要。

#### 5. 从纵向到横向整合的改变

因此, 公司业务正变得更加横向, 而不是纵向的整合。

不用扩展或提升他们自身的能力来适应新的技术, 进行外包的公司已经认识到比起需要他们自身完成所有的任务来, 外包可以使一个新产品以更快的速度上市。一个额外的好处是, 通过减少他们在固定资产上的投资, 他们能够提升其赢利的能力。

#### 6. 虚拟公司

外包行业也产生了一个新的“虚拟”公司, 虚拟公司的概念完全建立在利用承包生产者, 实验室和其他使产品从概念走上市场的服务提供者上。这样的公司是真正的横向整合, 而且它的优势在于当它管理生意时, 仅仅需要几个经理来协调各个承包商的工作即可。

#### 7. 供应链的管理

一种新的管理者已经出现在现有的决定外包的机构中。他们的工作就是有效地联系不同承包生产者, 形成一条供应链来完成从研发到市场之间的所有步骤。最终的供应链需要极少或不需资金的投入就能达到以前通过纵向整合得到的同样目的。

## 承包生产的定义

#### 1. 起始

承包生产首先起源于一个公司要求另一个公司为他们生产产品, 而其自己却不准备进行生产。承包生产者在各行各业中都能找到, 他们为所有的客户提供产品和其他的服务, 而不是生产自己的品牌。因为他们的设备设计得富有灵活性, 相同的设备可以为众多的客户生产产品。

#### 2. 种类

承包生产商可以分为两类, 如那些“供应”的和那些“收费”的。无论是哪一种, 所有的承包生产商都有着相同的特征, 即提供一种或多种服务以收取费用。

#### 3. 供应商和收费商

承包生产商可以是生产商、商品目录上的生产材料的供应商。这些供应商从商品目录中卖产品给一个或多个公司以供他们使用或处置。这种承包商有时被称为“原始设备制造商”。另外, “收费生产商”, 或者“收费商”是指:

- 从其他公司接受原料;
- 将原料转化为其他的形式;
- 将转化后的原料送回缔约公司以便其利用或进一步

处理。

这两种承包商本质上的不同在于一个是生产者根据自己的产品目录进行生产,而另一个生产者是根据顾客的需求来进行生产。抛开这种分类,每一种承包商可能提供的是同样的作用。

#### 4. 收费商的分类

##### 4.1 过剩生产能力的出售者

从事收费生产的公司可以进一步分成三类。第一类公司现存生产线的生产能力超过其所需的产量。为了不让过剩的生产能力闲置,这种公司使用它作为收费生产来减少薪水的负担和与过剩的生产能力相关的管理费用,同时产生额外的收入。这些生产者的定价通常很合理,因为他们的生产线正抵消了他们的固定成本,仅有与过剩的生产能力相关的可变成本。

##### 4.2 专业服务的提供者

第二种收费者由提供特定服务的公司组成,而不是销售已有的生产线的生产能力。这些设施、设备和人员都是为了适应特定的业务而规划的,如冻干和注射剂的生产。他们的成功取决于能够租出他们的设备和技术来为一个或多个厂家生产产品。他们关注的是生产产品而不是繁重的研发和市场。利用这种公司的一个直接的好处是他们不太可能与自己的客户竞争。

##### 4.3 学术机构

最后一种收费者由学术机构组成,他们能提供委托合成、制剂开发、中试生产和临床样品的生产来获得额外的收入以资助自己的学术研究。他们没有兴趣、也没有设备来完成商业化的生产。寻求外包的公司应该清楚学生或教职人员可能组成了此项业务的部分或全部人员。当考虑利用此类代工者时这可能是一个不利条件。

### 当需要承包生产者时如何决定

在产品开发时期和(或)商业化生产过程的任何时候都可能需要承包生产商。这些情况包括以下几种:

- 内部生产不能满足专用生产能力的需要;
- 需要产品和(或)工艺开发的帮助;
- 为专用的生产能力进行投资前,需要建立新产品的潜在市场;
- 遇上问题使生产计划被打断,无法按时生产少量的研究用、临床的或商业的产品;
- 当销售量超过产量时,生产无法满足销售的需要;
- 新的、成长性的产品需要生产资源,然而仍然需要为将要停产的产品提供生产地点。

#### 1. 与承包商合作的有利条件

特别是正在发展的公司与承包商合作可以得到许多好

处。第一,他们不用投资自己有限的资金就能使用生产设施。第二,他们立即从制药领域引入既有深度又有广度的专业技术到他们的业务中,而以往这些专业技术需要数年的时间才能得到。第三,他们可以使用承包商的操作人员。依赖于承包商的专业特长,承包商的工作人员在一个或多个制药领域中具有经验。这些经验包括客户定制的合成、生产中间体和药理活性成分、制剂的开发、冻干周期的开发、无菌操作、灭菌工艺的开发、法规的协助、辅料的获得、分析方法的建立、工艺和方法的验证、包装的开发和样品的储存及稳定性试验。

#### 2. 与承包商合作的不利条件

但是,外包的公司也必须熟知与承包生产商合作的不利方面。对于发展中的公司来说,其主要的缺点是客户将之前完全保密的宝贵的知识产权委托给另一方。客户也必须考虑到他们只是承包商众多顾客中的一个。因此,由于承包商资源的竞争,工程的进展可能不如客户所预想的那样快。最终客户至少承担了承包生产商部分薪水和管理费用的花费。

### 如何选择承包生产商

#### 1. 供应部门的参加

在评估完雇用承包生产商的优、缺点之后,如何进行选择呢?选择的过程非常重要,以避免将来有不满意。一些公司要求所有的寻找要在供应部门的指导下完成。此时,应要求供应部门展开寻找。无论这个政策存在与否,都建议在选择过程的所有步骤中与供应部门保持紧密合作。

#### 2. 列出条件

为了使那些潜在的承包商必须满足条件,可以被考虑到,那么通过列出这些要求来寻找承包商。提供这份要求列表给供应部门,在选择过程中最幸运的是发现供应部门已经雇用了能够完成所需任务的承包生产商。

#### 3. 来自同行的介绍

在列完要求的事项后,通过业内同行的推荐开始搜寻。没有比得到成功雇用过这一承包生产商的人的推荐更好的。你可以询问你的同行,关于他推荐的曾合作过的承包商的具体情况。这些询问也可以涉及雇者对承包商遵守相互约定的条件的满意程度。最后,雇者能够得到关于这项工程相关人员资质的意见。确保得到工作人员如何与客户相互联系的信息。

#### 4. 使用信息来源

通过商业信息资源<sup>[1,2]</sup>和对商业期刊广告的回顾<sup>[3]</sup>得到承包商的专业特点,这样也能够确定承包商。商业信息资源的工作人员索要承包生产商的概况来完成他们的数据库。

承包生产商通常在行业内发行量最大的期刊上为他们的服务做广告。许多这些期刊印出每年的购买者，根据广告商提供的服务将他们分类指导。互联网也是有用的工具可以用来确定承包生产商。在参考文献部分列出了一些网站。<sup>[4]</sup>

## 5. 贸易展示会

贸易展示会提供了很好的机会，可以寻找并遇上承包生产商。承包生产商在贸易展示会上提供了展示，通过这个展示可以获得他们公司的文字材料并在以后进行评估。与展示人员的联系，为你提供了一个与承包商初步讨论其服务的机会。你可以在这个场所决定这个承包商是否符合你的项目要求。

贸易展示会经常重点推荐关于承包生产话题的演讲者。

参加这样的会务，可以使你熟知承包生产的细节。你也可以从你的笔记和演讲者的宣传单中找到这个方面的最新信息。

## 6. 面试过程

一旦你确定了可能的承包商名单，便开始用电话与其联系。表1举出了一些在面谈中建议提问的问题。开始面谈时，先解释你正在寻找一个承包商，并且他们已经初步被确定有能力达到未来项目的要求。然后请求他们提供有关他们自己 and 能力的最新情况。为确保你搜寻时的充分、仔细，在每个面谈后请求对方告诉你，他们认为还有哪些公司能够满足你的要求。由这种方法确定的另外的承包商应进行联系并面谈，尤其是那些被多家公司提及的企业。

表1 寻找确定条件的承包生产商所问的问题

1. 承包商能够提供什么服务？
  - 处方开发？
  - 工艺开发？
  - 是否有生产某一特定剂型的能力和经验？
  - 需要什么样的生产能力？
  - 有无测试实验室？
  - 文件的准备和编辑？
  - 销售的能力？
  - 法规的协助？
  - 灭菌的过程？
  - 冻干？
  - 最终灭菌？
  - 验证？
  - 质量保证？
  - 检查？
  - 贴标签？
  - 包装？
  - 稳定性考察？
2. 承包商是否有能力、设备和产量来生产临床样品和商业化产品？（否则在产品上市前需要另一家生产商来完成）
3. 承包商应付处方、生产、质量控制、标签和包装改变的灵活性？
4. 开发、控制和分配的“交钥匙”服务可行吗？
5. 生产设施符合 cGMP 要求吗？
6. 承包商是否允许对设施的检查？
7. 承包商是否允许客户审查每一批客户产品的生产？
8. 承包商是否有一个已建立的程序来监控并改善质量？
9. 承包商能否提供一份客户所期望的最低要求的清单？
10. 在项目开始之前，承包商是否提供一个需要填写的产品信息调查表？
11. 在产品使用前，承包商是否坚持双方审查并通过批生产记录？
12. 承包商是否需要生产时一位客户代表在现场，或者是需要客户派一位懂行的人随时以电话的方式进行联系，对生产中出现的问题立即给予回应？
13. 承包商能否提供分析上的支持？这个支持是否能满足客户要求？
14. 承包商能否提供一个分析方案或在出货时像提供完整的批记录一样提供每批样品的一致性证明？
15. 如果由于承包商自己的疏忽而使客户提供的原料发生损失，或者是未能完成双方签订好的标准和条款，承包商的对策是怎样的？
16. 承包商是否鼓励创新或宁愿保持原状？能否描述新的操作、过程？
17. 承包商会否授权获得设备主文件？
18. 承包商与管理机构的关系如何？
19. 当管理机构审查时，承包商的态度如何？
20. 承包商是否提供保密协议？

续表

- 21. 承包商是否愿意并签署长期供货协议?
- 22. 承包商是否出售他的母公司的多余生产能力?
- 23. 承包商能否遵从已定好的时间表?
- 24. 承包商的客户服务部门的反映情况如何?
- 25. 承包商是一个机会平等的雇主吗?
- 26. 承包商有过为政府合同提供原料的经历吗?
- 27. 承包商能为客户提供船运或国际贸易吗?

注: 表中询问的答案可以帮助你选择提供所需服务的承包商。

7. “很好”与“优秀”的承包商

对于他们所做的业务, 一些承包商已经被认为达到了“很好”的状态。一旦达到了这种状态, 他们的生意通常会增加, 停工的时间会减少。然而, 随着进一步的发展, 承包商生意的本身会产生问题, 如许多客户的参与、设备的经常更换和生产多批多样性的产品。达到“优秀”的状态是唯一的挑战, 因为一个“优秀”的承包商能够合理安排进度, 合理分配时间, 使其自身能注意到每一个步骤的细小环节, 以便顺利地、完成最难的部分, 并达到完美。你的搜寻的目的应该是努力找到“优秀”的承包商。

8. 保密协议

在一个“最终名单”确定之后, 与他们签署一份保密协议。只有当你们公司和承包商签署完这份保密协议后, 才能讨论这个项目的具体细节。一旦提供了项目的具体细节, 那么可能的客户和承包商可以决定承包商有能力是否能满足项目的需要。

9. 与选定承包商的第一次会议安排

这个过程的最后一步是从最后的名单中选择一家, 并邀请其举行会议讨论更为详尽的合作细节。这样一个会议样本的日程安排见表 2。在会议前应提供给承包商为准备此次会议所需要的信息。在项目启动以前可能需要召开其他的会议。

表 2 与承包商初次会面的实例议程

- 1. 欢迎和介绍
- 2. 参观承包商的设备
- 3. 项目的详细描述
- 4. 承包商的员工提问和回答的时间
- 5. 客户的要求和期望
- 6. 承包商的要求和期望
- 7. 同意进行或终止进一步的讨论
- 8. 如果适合, 拟定时间表和确定重大事件
- 9. 业务问题
- 10. 休会

10. 工作的陈述

根据第一次会议, 承包商将会评估所提供的信息。一个善于分析的承包商会接着提出一个详细的建议, 在客户

的产品加入到产品目录中之前描述了完成该项目所必要的工作。承包商和客户应该尽可能地经常沟通, 使双方都能对承包商提出的工作安排达成共识, 以便更好地达到客户的需求。

合同的拟定

1. 基本的要素和规定的流程

讨论生产合同的双方通常知道合同包括生产产品的定义、产品的成本和产品的交付日期。除去这些因素, 客户和承包商最好共同来完成书面的程序, 规定双方如何合作的细节, 并且确保采取合适的行动。这些程序或者包括在合同中, 或者采取互相同意的内部操作程序的形式, 而且合同必须详细说明客户如何检查并同意所有针对药品生产的生产商的过程。客户有责任拿出操作规程来描述将来用于检查和控制的机制, 并将这些提供给承包商。客户增加了完成书面程序的责任来确保承包商能遵守之前所同意的所有要求。必须给承包商一个程序的副本, 使其了解客户的标准。

2. 符合选取条件

基本上, 合同必须保证客户能期望从承包商处得到最高的专业水准, 即承包商能提供高质量的产品, 并且产品在 cGMP 的条件下以一个合理的价格进行生产。承包生产者仅仅卖出他们的服务和他们的质量过程, 因此与这些条件一致是选取你的承包生产商的原因。通常列入标准的商品和服务供应协议中的条款目录, 包含在这篇文章的附录中。

花费

1. 承包商的服务费用

雇用—个承包生产者需要花费多少? 尽管承包生产费用好像昂贵, 但雇用承包商可以让客户将资源集中到具有更高价值的领域, 而不用维持许多的生产设备。作为提供给客户其他客户资源机会的回报, 承包商希望收到与投入相等量的报酬, 包括在资金设备上的投入、工人的薪水和福利、提供的原料、一般开支、批次的大小和合理的利润。

## C

### 2. 基于预计业务的费用

然而并没有一个规定的费用适用于承包商的服务。在大多数情况下,一个承包商不像一个常规的生产商一样有生产线。是否有业务完全取决于客户的意愿。承包商所得到的业务的数量由客户的产品在临床和市场上的表现来决定。承包商能够猜测出每年有多少业务,但是不确定因素很多。因此,一位承包商通常根据每批产品的成本来收取费用,而不是每年计划生产的全部产量。为了得到折扣,客户必须准备好提供合理的有保证的产品需求。

### 3. 费用与批产量相关

每批生产的产量的多少是考虑成本的一个重要方面。无论每批产量的多少,生产启动的最低费用必须收回。很明显,批产量越多,有更多的产品个体来分摊这些费用,单位产品的成本就相应地减少。相反,由于同样的原因,批产量越少,单位成本越高。

### 4. 自己生产与外包生产

当评估合适的承包费用时,客户必须事先知道自己完成这个项目的成本。然后,必须考虑加上承包商的费用和产品的利润后其花费是否大于自己生产的成本。最终,一个客户必须证明任何推迟上市造成的损失要比外包费用更加经济。

## 与承包生产商合作

### 1. 时间表

与承包商合作之前的第一步,客户和承包厂商都必须签署一份双方同意的项目完工时间表。这份时间表应该包括决定举行汇报和(或)总结的时间结点。然后确定双方的主要联系人,以确保公司之间进行统一的交流。作为客户方面的主要联系人有责任监督承包商对时间表的遵守情况。如果是合理情形的需要,任何一方必须同意可对时间表进行修改。

### 2. 承包商的投入

从承包生产商的角度,客户通常认为承包生产商只是提供服务而不期望在药品进入市场的过程中提供投入。为达到成功的合作关系,这种观念必须改变。事实上,相互之间的最佳利益最好由互为搭档来实现,自由地共享信息来确保共同的成功。

### 3. 交流

一个承包生产商给其合作者带来了比生产设备更多的东西。承包商不仅仅是另一双手。承包生产商和他的客户必须能够互相平等交流,并尊重对方的贡献。

### 4. 成功合作的关键

建议客户最好能听取承包商的意见并尊重其任何想法。毕竟承包商在小心地保护他们的机密时,会调动多年来为其他客户代工的经验,提出对问题的看法、常规的考虑等,这些情况可能是客户第一次遇上的。

### 5. 主要产品批次信息

开放的交流渠道确保了连续的合作和成功的产出。鼓励你的承包商及时与你讨论在生产过程中和管理方面出现的任何问题或想法,如与承包商分享你的数据和其他的有关分析结果,从专题组、对产品的任何抱怨和临床研究得出结论。经过合作,调整生产过程以保证产品的质量。当雇用承包商时,必须记住:一个成功的合作关系需要双方合作才能达到目标。

当承包商开始生产时,主要产品批次信息必须详细对其进行说明。这个主要的信息包通常包括对原料、成分、分析方法的详细说明,成品的详述、包装的说明和其他与产品相关的信息。客户有责任在允许承包商生产之前检查并批准产品的主要信息。这个批准表明客户确定承包商将生产符合标准的产品。

### 6. 客户的代理人

客户的一位代表在承包商生产产品时应该出现在生产现场。如果客户决定不派代表进驻现场,客户应该告知承包商一个授权联系人的姓名以便24h随时与之联系,来解决生产过程中可能会碰到的问题。

## 与承包商合作的缺点

### 1. 使用工业化的设备生产少量产品

一些承包商的设备仅适合工业化产品的大量生产。因此,也用同样的设备生产较小研发规模的样品。当批量小时,尤其是生产昂贵的短缺原料,这是个不利方面。因为相当大量的按配方生产的产品可能无法转变成成品。一些原料总是在工艺设备上附着,无论体积的大小。被附着的原料无法进行加工处理。附着的原料量与加工设备的大小有关,对于所用的设备来说附着量相对恒定。不幸的是,当计算损失时,用于大生产的设备生产的每批产量越少,损失的产品百分数越大。

### 2. 特殊设备的买回协议

当与承包商合作时,另一个需要考虑的问题是是否需要特定的或专用的加工设备。如果需要专用的或特殊的设备,承包商可能有必要要求客户为这些设备提供或不提供将来的买回计划。在买回计划中,如果产品未能变成可行的大量商品,承包商则要求客户最初承担投资资金的全部损失。然而,当产品成功地完成上市的每一个步骤时,客

户的资金投入应被逐渐地返回。最后的结果是，当产品最终工业化时承包商拥有工业化生产客户产品的所有设备。

### 3. 责任

接着是有关责任的问题。如果一件不利的事情发生在客户自己的运作中，客户应当承担经济上的损失作为经营的成本。当在生产过程中有产品或原料的损失时，客户希望承包商承担多少责任？承包商会争论说，即使一个单独的产品，在承包商生产客户的产品时，承包商的设备是客户的车间的延伸。因此，如果一件不利的事情发生在生产的过程中，承包商希望客户能承担任何经济上的损失，如同损失发生在客户自己的运作中。无论客户是否同意这个观点，双方应承担责任的比​​例必须在讨论合同的谈判中达成一致。

## 规章条例

### 1. 承包商的身份

从管理的角度看，在管理部门的管辖下，管理部门并不会将一个承包商与其他承包商区别对待。一个承包商必须与其他承包商一样遵守相同的联邦、州、当地的法规。在美国，雇用承包商作为主要或替代生产注册药品的生产者必须首先得到美国 FDA 的预先批准。即使是雇用了承包商，缔约公司依然保留主要的责任来确保承包商遵守所有产品注册中的所有条款，以及遵守 cGMP 的各个方面。

### 2. 检查

管理部门定期检查承包商以保证这些生产商能够遵守 cGMP。在美国，所有的管理机构的报告作为自由的信息可以让任何人看到。任何打算雇用承包商的公司应考虑阶段应该仔细检查所有公司的管理历史，作为选取承包商的步骤之一。类似的，作为合同关系的一部分，客户公司对承包商应该有契约上的要求。如果有关客户产品的检查，或者是检查时有不利的发现可能会影响生产商的持续供货时，承包商应该通知他们。

### 3. 预先批准检查

管理部门也指导预先批准检查作为注册文件检查的一部分。在进行预先批准检查之前，客户和承包商应该重新检查所有检查中所需仔细考虑的文件。客户也应该确保承包商确实遵守 cGMP。

### 4. 国际上的考虑

如果客户要将产品推上国际市场，客户应该为承包商提供可能会影响产品在各个国家上市的管理要求。承包商不会对遵守不熟悉的条例而负责。

### 5. 主文件

承包生产商应该乐于给客户​​提供授权以允许管理机构

参考保存在管理机构档案室中的设备主文件；或者，如果一个设备的主文件不能作为一个特别种类注册的合适材料，承包商应该提供足够的关于生产过程和步骤的信息，使客户能够满足申请产品注册的要求。尽管很方便可以使用承包商提供的信息来准备产品注册的申请，但是客户必须要彻底地仔细检查信息以确保从管理机构的角度看，对产品的监控并没有随意地转移到承包商身上。

### 6. 对生物技术行业的特别要求

生物技术行业是使用承包生产最多的领域之一。承包生产商通过细胞培养和（或）发酵来生产大量的活性药物成分，然后其他的承包商可能将大量的活性药物成分转换成成型的制剂。管理多个公司进行产品生产的规章制度由 FDA 不断地完善补充。

### 7. 专用设备

专用设备是在某些情况下，管理机构要求用于某项生产的设备。如果提出这样的要求，许多承包商要求客户购买这个设备。这个费用会变成另外一个起始费用，应该将它算到总的雇用承包生产商的费用中。

### 8. 共同的管理主题

无论产品是传统的制药或是生物技术产品，一个共同的管理主题总是存在的，那就是雇用承包商的公司依然对将要生产的产品负有责任，而且要确保承包商遵守许可的条例和 cGMP。

### 9. 承包商与管理机构的历史关系

最后，在与承包生产商合作之前，未来的客户必须确保承包商与管理当局之间具有良好的历史记录。这种资料可以通过一些关于承包商的机构调查报告获得（在美国通过免费信息可以得到）。

### 10. 与管理机构的合作

承包商在与管理机构打交道时，常常应该站在相反的观点上。如果仅仅维护承包商的观点，这样的选择会有更多的风险。这样的承包商可能会对客户的连续性的产品生产造成危害，特别是当承包商与管理机构存在产品的工艺和规范上的争议时。就是因为这个原因，未来的客户不应该选择这样的承包商。

## 监控承包商

### 1. 质量保证的最初审查

在与承包商建立关系之前，准客户质量保证部的人员必须审查承包商的设备。在审查的过程中，承包商应该乐于提供一个对设备的全面介绍，根据这个介绍，审查人员必须仔细检查承包商的所有标准操作规程，这些可能会应

C

用到公司将来的项目上。另外，审查人员需要考察承包商的质量改进过程和这个过程的结果。审查过程中发现的任何问题应该立即与承包商进行讨论。

## 2. 收到审查报告后采取行动

在审查完成之后，审查者应该给承包商提供一份报告，列举出在承包商的操作中所发现的可能会影响承包商无法顺利完成项目的问题。承包商应书面回复这份审查报告，并强调他们如何解决每一个发现的问题。在审查的结果和承包商回复的基础上，审查小组给审查机构中负责此事的人员一份关于承包商可接受性的意见书。

## 3. 生产现场的代表

一旦开始生产，大多数客户会选择派驻一位客户代表到现场。承包商应该允许客户代表观察生产的完整过程。在视察之前，客户必须指示他们的代表，遵守承包商所有的标准操作规程，而且关于客户代表参与生产过程的程度，需要客户和承包商在派驻代表至现场之前进行商讨。

## 4. 客户质检人员的定期检查

在客户与承包商建立起工作关系后，客户的质检人员应被允许对承包商的设备和操作进行定期检查，但检查次数通常不会超过一年一次，而且任何检查中发现的问题需要承包商给予书面的回复。如果答复的结果无法令审查人员满意，则必须请双方的高层管理人员来立即解决这些分歧。如果有必要，双方的管理层必须保证任何的解决方案符合合同签署的条款。

## 5. 季度会议

最后，客户和承包商的决策者共同举行季度会议是一个好的举措。这些会议确保了双方公司的密切合作以达到共同的目标。这些会议允许承包商参与到客户的决策过程中，回顾上个季度的情况并提出下个季度的计划。讨论的话题应包括承包商是否达到客户的预期要求、关于客户产品管理问题、承包商最新的管理经验、销售的预测和其他与此有关的内容。

## 结语

通过具有技巧性的管理和监控，利用承包生产商生产产品已经从“试管奇迹”的阶段走出来，达到“杰出产品”的阶段。虚拟的公司已经学会很好地完成这些任务，并成功地将多个承包生产商联合起来形成未来横向的综合公司。

与承包生产商合作是很容易的，只要遵循以下几点即可：

- 在项目时间表的早期就确定雇用承包商；
- 与承包商商议决策，如剂型、成分、法规等；
- 在未能首先确保承包商同意的情况下，不要在管理文件中加入特别的要求；

- 客户和承包商在开始项目前共同拟订工程的要求；
- 客户已经从员工中指定了专人，与承包商随时联系，以便解决问题；
- 记住这样的箴言——你对承包商如何，承包商就会对你如何。

## 附录：合同的要素

下面所列的条款通常加入到货物和服务的提供合同中。作者利用他超过 15 年的经验回顾了各种各样的供货合同，完善了这个目录。未来的客户可以利用这份目录来确保他们合同的完整性。根据情况不同，有的合同可能需要额外的要素，而有的则不用。任何合同关系都是要达到双方双赢的目的。这个目标只能通过在谈判过程中双方诚实守信和符合程序才能达到。

### 目录

1. 支付条件
2. 预测活动
3. 质量标准——检测方法
4. 定价
5. 责任——双方的
6. 需要提供的特殊条款或服务
7. 从拥有者的角度看运输和责任的限制
8. 审计和检查的权利
9. 期限和延迟
10. 合同担保
11. 产品或工艺改变的预先核准
12. 保密性
13. 供货失败时的备用供货
14. 转包合同的限制
15. 接受性
16. 解决测试争议的第三方实验室
17. 保险
18. 超过预测量的供货
19. 稳定的采购订单
20. 控制（质量）的变化
21. 分配权利
22. 无法完成目标时的惩戒
23. 稳定性的责任
24. 召回的责任
25. 生存
26. 专有的/非专有的全部要求
27. 不可抗拒的事件
28. 遵守规章/州或联邦法律/cGMP
29. 可分离性
30. 通知
31. 仲裁和争议的解决
32. 管理法律
33. 修正案



34. 价格改变的通知
35. 准确性
36. 完整的合同
37. 供货人的证明
38. 反面作用的报告——产品的意见
39. 独立的承包商
40. 在短缺情况下安置的能力
41. 特许权
42. 供应和短缺的情况
43. 资本成本和加工
44. 产量——多于/少于能够装运的质量
45. 商标权
46. 专利权
47. 退回
48. 安全储存的要求和过期的责任
49. 技术的拥有权或信息的所有权
50. 税款
51. 人力资源——政府、EEOC 的要求
52. 解释
53. 索引
54. 进口税和关税

55. 不竞争

## 参考文献

1. PharmSource™ Information Services, P.O. Box 8163, Springfield, VA, 22151.
2. Technomark™ Consulting Services, Ltd., King House, 5-11 Westbourne Grove, London, W24UA, United Kingdom.
3. Magazines; Pharmaceutical Technology; Contract Pharma; Pharmaceutical Processing; Formulation & Quality; Drug Discovery & Development; Biopharm.
4. Internet Sources; Member/Subscriber Only Access; www.pharmsource.com PDA, AAPS, BIO, etc.; Free Access; Individual Company Sites; www.pharmaportal.com(All Advanstar Publications) (www.pharmaceutical-online.com) (www.pharmpro.com) (www.contractpharma.com) (www.pharmaquality.com).

(羊 臻 译)



## 处方药与非处方药的广告及促销

Wayne L. Pines

Pharmaceutical Consultant, Washington, DC., U. S. A.

### 引言

为确保每个需要了解药品的人都能及时地接收到产品信息,制药公司总是声势浩大地销售其产品。药品营销与其他商品的营销相比,在许多方面有其独特性:

- 药品营销直接面对的一大部分受众并不是最终的使用者,而是医生、药师、健康维护组织的管理者;
- 甚至在一个大众媒体宣传占主导地位的时代,针对如医生等特定人群的营销,仍保持了人与人之间传播的方式;
- 制药公司销售产品的事实备受争议,有的评论家认为,基本的卫生保健产品不应该被销售;
- 联邦政府投入重要资源并已建立了广泛和复杂的规则,确保药品的促销准确和平衡。

但有一些重大问题仍未明确,如公司怎样才能传播那些未包含在 FDA 批准的标签中的科学信息;如何管理因特网;以及“简明摘要”的作用。以上这些情况及其他一些问题都使药品领域的广告和促销处在动态和变化中。

### 背景

处方药的广告和促销一直以来都受到争议。制药企业坚持此类促销活动有重要的教育意义,它保证患者能够从医生、药师或者其他的医疗保健提供者处了解到新产品的优点。药品制造者们强调,促销包含众多目的,而决非仅为了售出更多产品。这些目的包括告知消费者新的或现有的产品可能会更好地改善他们的健康状况;对医疗保健提供者进行新的或现有的产品知识及使用方法的培训;以及向医疗产品的经费提供者和直接购买者提供信息<sup>[1]</sup>。

另外,企业方和广告、促销的支持者们主张,现代社会中确实存在着与制药公司沟通其研究和新产品信息的需求。公众需要获得医疗保健产品的知识,每个人都想了解医疗进展。对一个新的生物技术公司的投资是基于对其新产品潜在价值和研究进展的了解。医疗保健提供者需要不断地了解在其专业领域内正发生哪些进展。

制药公司在介绍新产品中投入了各种重要资源,通过销售队伍及广告、直邮、研讨会、晚餐会、医学专业会议上的介绍、展览等各种方式,把产品信息提供给医疗保健提供者。20 世纪 90 年代,向新药的最终使用者——患者直接进行促销开始变得普及。公司开始投资,进行杂志、报纸、广播、电视和互联网上的促销活动。

药品营销的批评家认为,通过这些途径来传播处方药

的信息是不合适的。他们认为药品与其他强力促销的商品不同之处在于,药品是健康所必需的,一旦被滥用或误用就会造成伤害,有时可能是生与死的区别。

批评家们认为广告和促销会通过引导消费者寻找和使用某些对其病症并不适合的处方药而危害健康。同时,他们还认为制药公司的促销活动耗资巨大,这样就增加了处方药的价格,造成一些人承受不起药价而无法获得自己需要的药品。他们认为并不需要促销活动,因为医疗信息最好是通过医学文献传达给医生,然后由医生来决定什么对患者最合适<sup>[2]</sup>。

最后,批评家们表达了对由处方药制造者所发布的信息的准确性和真实性的关注。他们担心由于这些公司的主要目的在于提高自身产品的销售业绩,所提供的资料可能存在偏向性。

围绕药品促销合适与否的争论可能会永远继续。事实上,至少在美国,药品促销仍然是医疗保健服务传递步骤中的一个不可缺少的环节。它受到 FDA 的严格控制以保证其真实性和平衡性。在可预见的未来,制药公司仍会继续通过各种沟通手段吸引不同消费者的注意。

### 药品广告和促销的程度

由于活动的名目繁多,没有完全准确的方法能计算用在处方药品广告和促销上的花费。包括传统的医学杂志广告、公司的销售人员拜访医生和其他医疗专家、晚餐会、在各医疗会议上广泛展出、制药公司赞助的医学继续教育、公共关系项目、通过所有可获得的媒体直接面对消费者、专家和患者并组织促销等。

在制药公司里,促销一个特定产品的总费用源自许多不同的预算项目。在美国,处方药花费的促销费用预计高达 139 亿美元。1999 年,仅直接面对消费者的电视广告一项就花费 11 亿美元<sup>[3]</sup>。直接面对消费者的杂志、报纸和电视广告上的处方药广告更提升了药品促销活动的曝光率。

制药公司通常在新药上市时的促销花费最多,而在药品专利到期,面临非专利产品竞争时,促销预算往往会大幅削减。

### 规章制度的历史沿革

FDA 的任务在于确保处方药的所有广告和促销是准确的、充分透露了存在的风险,并且是公正平衡的。FDA 对于制药公司所发起或赞助的所有广告、促销材料、方案的管理有两个法律可依。

第一个是1962年对《联邦食品、药品、化妆品法案》药品部分的修订案。在1962年，国会对这个法案做了较重要的一些修订。在沙利度胺事件中，由于FDA谨慎地撤销了这种可能致畸的药品，使美国人避免了畸胎的发生。这个事件促使了1962年修订案的制订。但是，国会在立法听证会上对被指控的制药公司滥做广告和促销的现象给予了充分的关注。

1962年修订案中的第502节就特别针对广告。把管理处方药广告的权利赋予FDA，而此前管辖权属于联邦贸易委员会(FTC)。第502(n)节范围狭窄，条例含糊。它认为一种处方药贴错标签。

“……除非所有发布广告和其他描述性印刷材料中涉及的制造者、包装者和分销者及由他们所发布的材料就此药品有以下真实性的声明：①必须显著地印刷依据第502(e)节被确认的通用名，大小和字型至少要达到商标或商品名的一半；②按第502(e)节的对标签的要求，在处方描述中，应定量地显示这个药物的各个组分；③依照第701(e)节的程序，在简明摘要中与副作用、禁忌证和有效性相关的其他信息应符合由部长签发的规章的要求。规定：a)除了非常情况，本节中没有任何规章能要求部长对任何广告做出预先批准；b)根据修订，在本适用于处方药广告管理的规章生效后发布的处方药的广告，无须再遵守联邦贸易委员会法令第12到17部分的有关规定<sup>[4]</sup>。”

实际上，本法认为要使一个药物不被错标，在广告中必须出现药物的通用名；必须包含药物的分子式；必须包括有关风险的简明摘要。根据宪法第一修正案(自由言论)，FDA不得要求广告在使用前必须获得批准。在20世纪60年代，FDA公布了详细的规章来实施第502(n)节<sup>①</sup>。

FDA目前对处方药广告和促销的管理权的第二个法律依据源于《联邦食品、药品、化妆品法案》中第201(m)节中对药品标签的定义。此节把“标签”定义为伴随药品的印刷或图表材料。FDA的规章中进一步把它定义为：“手册、小册子、邮寄材料、推销材料、文档卡片、公告、日历、价格牌、目录、内部刊物、信件、电影、电影胶片、幻灯片、录音制品、展牌、文献和重复印刷的材料和类似的描述药品的各类视听资料，以及含有由药品的制造者、包装者、分销者所提供的药品信息，并由他们或他们的代表来传播的，供医学从业者、药师、护士使用的参考书<sup>[5]</sup>”。

实际上，FDA将第502(n)节和第201(m)节及其中的执行规章进行了组合，并规定一切由制药公司所发布或赞助的有关其处方药的材料都受其管理。实际上，那些不被视为广告的促销材料就被当成标签进行管理。事实上，无论促销材料被界定为广告还是标签，FDA已经为所有促销材料制定了相似的要求<sup>[6]</sup>。

尽管1962年FD&C法令修订时并没有预想FDA对制

药公司发布的所有信息沟通和营销资料拥有宽广的管理权，制药企业已默许了FDA对其权力范围定义的日益扩大。制药企业所持的看法是只要FDA公平地执行这些规章，可以帮助树立对其材料准确性的根本信任。另外，经过多年的博弈，企业方不再选择挑战FDA在此领域的权力扩张，而选择在其他方面来与FDA进行管辖斗争。

多年来，FDA逐步发展制订出大量的正规规章、指导意见、非正规的政策、警告信衍生出的强制法令。同时，还建立了高度错综复杂的系统来管理处方药的广告。

FDA对由制药公司发布或资助的所有促销活动中出现的每个词、脚注、图片和细微差异都有管理权。具体包括了对消费者的促销、新闻材料、推销支持材料、医学继续教育、专家研讨会、给予保健管理组织的材料等。对于公司销售代表向医生的口头陈述，FDA也有管辖权力。

FDA对其管控的其他医疗产品也有相似的要求。例如，FDA的药物研究和评价中心(CDER)管理药品，类似的另一个中心生物制品研究和评价中心(CBER)管理生物制品，它们基本上采用了相同的标准。对医疗器械广告的管理有单独的法律依据，即FD&C法的第502(r)部分。

FDA对医疗产品促销的管理分散在联邦法规第21篇的好几个部分中。在各对应的部分中，第200部分特别是第201部分为药品促销；第510部分为兽药；第601部分为生物制品；第801部分为医疗器械。

20世纪90年代，FDA对广告和促销的管理显著加强<sup>[7]</sup>。FDA意识到有关处方药的新的信息沟通形式开始变得越来越普遍，如新闻发布、消费者手册、面向医生的有线电视节目。针对医疗专家和消费者的促销活动铺天盖地，促使FDA增加了大量的资源以监管这些活动，并加大强制执行法规的力度。同时，不断地公布新的政策来覆盖各种新的沟通形式。FDA管辖的各个产品领域中都有人员和执行权利的增加，但最显著的是在药品领域。

## FDA 规章的基本原则

该机构的政策一直是在发展的，以响应信息沟通的新形式和医疗市场的新需求。然而，有一些基本原则是FDA规章发展的基础<sup>[8]</sup>。

由制药公司发布或赞助的处方药广告和促销材料中的所有信息必须是真实和不会产生误导的。在促销材料中只能宣传与FDA批准标签一致的信息。

一切有关产品的宣传都应有经过FDA审查或遵守FDA审查的科学研究作为支持。例如，假如公司想为一个产品的药物经济性或者提高生活质量做宣传，必须要有研究作为证明。

所有的有利信息必须与风险信息完全平衡。FDA将“完全平衡”定义为“平衡地介绍益处和风险”。这表明，

① 21CFR201 包含这些法规。

如在一个广告中,一定程度上描述了一个特殊的利益,也必须描述与此相关联的医疗风险。“公正的平衡”同时也意味必须描述产品的局限性。对于每个药物和沟通方式,“公正的平衡”会有所区别。FDA 要求相比其产品优点的描述,所有副作用和药物禁忌的介绍必须有适当的显著性和易懂性。

有关产品的相关材料事实都必须公开的。如果广告和促销中遗漏了说明一些实际情况会影响处方的开具、药品使用或购买,此材料就会被认定违反了规章。

每当推销产品或医疗宣传时,都必须提供给信息接受者有关产品的充足全面的其他信息。印刷品广告必须附有有关风险的简明摘要。FDA 允许直接面对消费者的印刷广告品,但必须有一个以“问答形式”出现的、指导消费者的简明摘要。如果一个产品是通过电视广告直接向消费者促销,则必须保证消费者能获得附加的重要信息,以使它们能评价产品的益处和风险。根据 1999 年 8 月 FDA 发布的指南,可通过 4 个机制达到以上要求:消费者可以通过拨打 800 电话,询问邮寄收到的或读到的产品信息;供询问的互联网网址;近期杂志广告中的信息;或者可以从医疗保险提供者那里获得资料<sup>[9]</sup>。

任何特定产品的发行物,无论由制药公司直接发布还是由代理机构发布,都适用于这些规定。任何同处方药公司有经济关系的人,同公司一样受到同样的信息沟通规则的限制。一个制药公司的代言医生促销宣传时必须严格遵守已批准的标签,并要求制药公司为此担保。

## 具体的 FDA 规定

FDA 通过一系列的指南、政策、强制性法令来表示它对具体问题的关注。

上市材料:这些材料被定义为用来促销新产品或产品新适应证的材料。FDA 把这类材料视为最高审查级别。因为新产品或新的适应证在介绍活动中的一些宣传会在医疗专家和患者的意识中形成一个期望。上市材料在 FDA 对广告及促销材料的审查中是最高级别的<sup>[10]</sup>。尽管按照法律 FDA 并不能要求上市材料在提交后才能使用,大多数企业仍在使用前向 FDA 进行提交。FDA 不会对材料进行正式的批准,但会提出详细的评注意见。如果公司不按照 FDA 的评注修改材料,可能会面临被实施强制法令的风险。

脱标促销:这已经成为 FDA 管理中一个受到高度争议的部分。在 FDA 看来,上市产品宣传一个未被批准的用途对公众健康是一个重大的威胁。如果医疗保健提供者和消费者被误导相信未被批准的产品用途是安全有效的,可能会发生对健康不利的后果。此外,如果产品被批准为一个用途但却可以在其他的用途上进行促销,企业就不会有动力进行必需的额外研究了。

FDA 对“未批准用途”的定义非常简单:即未包括在 FDA 已批准的标签中的用途。对 FDA 来说,这个用途即便已被广泛操作或被医疗团体广泛接受,也没有区别。宣

传是否可被推广的唯一衡量标准就是它是否在 FDA 已批准的标签中。因此,即使医学专家们普遍相信一个特别的作用是安全有效的,FDA 仍可制止公司推广未被写入 FDA 批准标签的适应证的行为。例如,在 1993 年某制药公司签署的同意判决书中,FDA 反对此公司对已在国外被批准并广泛接受的但尚未得到美国批准的产品用途进行推广<sup>[11]</sup>。

自 20 世纪 90 年代早期开始,FDA 对脱标信息的禁止和严格管理成为争论和矛盾的中心。华盛顿法律基金会——一个保守派的法律机构,在 1993 年 10 月向法院提交了申请书,指控 FDA 管理如继续医学教育等教育活动的合法性。这个申请所引发的案件最终导致了联邦法院终止了 FDA 的这类管理,而在 90 年代的大多数时间里,这类问题一直无法解决<sup>[12]</sup>。

当华盛顿法律基金会的案件还在继续法律程序时,国会开始寻求一些中心问题的解决办法。1997 年的《FDA 现代化法案》中的第 401 部分为公司向医疗保险专家发布一些含有脱标信息的再版印刷品和教科书时能获得 FDA 的批准建立了一套程序。这个程序要求公司为需要获得批准的脱标用途进行调查;并保留可能收到脱标信息人员的记录;FDA 对发布信息的澄清,澄清信息包括一个临床说明书,一个参考目录和一个对此脱标信息的免责声明<sup>[13]</sup>。

当围绕脱标信息发布的争论仍在继续时,FDA 在确信制药公司发布了可能导致不正确的处方和危害患者健康的信息时,也有其他法律措施来补救。FDA 认为它可以并将会在其管理规章里制订出一个部分来禁止“错误的或有误导可能的”信息的发布<sup>[14]</sup>。

在一段时间内,脱标信息的发布问题还会存在争议,FDA 在寻求以严格管理处方药脱标信息的发布的同时,法律组织和企业方也在寻求将此类信息传播给医学专家而不引起执法行动的途径。

批准前促销:FDA 反对在产品批准前进行宣传。1994 年,FDA 与制药公司达成了一致意见,在管理规章的第 312.7 部分有详细说明:“在批准前,由研制者提供的宣传材料与最终批准的标签中的适应证和风险信息相比,往往是不够准确的。这是因为研制者并不知道最后产品标签中包含的适应证和其他信息会是什么。另外,研制者对药品的评价可能会过于乐观,夸大产品效力同时缩小风险。这样,在最终产品标签批准前由研制者提供的宣传材料中就可能加入了研制者的偏见。这样的宣传材料不仅不能满足医疗保险提供者和福利津贴管理者获得平衡、准确的新产品信息的要求,还可能发布了错误信息并造成风险和误用<sup>[15]</sup>”。

对比性声明:FDA 要求制药公司对其药品发布的任何对比性声明必须有科学证据。对比性声明的例子有,“药物的选择”、“不可超越的”、“更有效”。支持对比性声明的研究必须是有针对性的,也就是说,这些研究必须预先就设计为两个产品间的、直接比较。FDA 禁止把产品具有超越性能的宣传建立在从两个或更多个实验中摘取的资料之上,即使这些实验的方案是基本相似的也不可以。另外,



FDA 还要求任何比较性声明都与患者有临床相关性。同时,在做一个比较性声明时,应保证它不是错误的或带有误导性的,并且不能遗漏公司产品劣于其竞争产品的其他评估方法。

药物经济学和生活质量的声明:只要能提供证据,就可以声明产品是划算的,或者能改善患者生活质量的。关于如何提供此类证据并没有严格的标准。就药物经济学的声明来说,1997 年《FDA 现代化法案》中规定,公司只要能够提供足够的、可信赖的材料作为依据就可以向保健管理者、其他购买者和赔偿组织提供其经济、有效的信息。这与 FDA 对于安全性和有效性声明必须建立在充分和良好控制的研究基础之上的常规标准来说是相对要求较低的<sup>[16]</sup>。另外,生活质量的声明必须由临床研究证明。

提示性广告:制药公司经常发布不提及产品适应证,但是会提示阅读者和观众产品名称的一类广告被称为提示性广告。按照 FDA 的管理规章,这类广告可以描述产品的名称(包括通用名)、成分、剂量、制造者、包装者和分销者的名称和地址。广告不可以提及产品的用途,不能做有关产品安全性和有效性及其已陈述的宣传。这类广告不受 FDA “简明摘要”的要求。在 FDA 批准标签中有黑框警告的处方药产品,或有一些其安全性未被 FDA 重新验证的较老的产品不能发布提示性广告。

新闻发布:FDA 对制药公司发布产品即将上市的新闻内容管理权,并宣布其是“标签”<sup>①</sup>。也就是说,新闻发布中必须含有合理平衡的风险信息,并附有完整的说明书。FDA 还希望新闻发布中含有一些关于产品的注册背景的免责声明(例如,发布一个尚未批准的产品的研究声明时,必须清楚地说明产品还未被批准或其申请尚待 FDA 的批准)。产品批准前的新闻发布必须避免产品已经显现出安全有效的断言及任何可被理解成促销性质的言辞,如使用“有望的”或“突破性的”等词汇。

新闻通报录像:新闻通报录像定义为 75~90s 电子版本的新闻简报。FDA 按照促销性质的标签对它们进行管理。因此,它们必须包含平衡信息。另外, FDA 还希望那些收到新闻通报录像的人们能够很方便地获得临床说明书<sup>[17]</sup>。

针对股民和投资者的出版物:针对股民和投资者的出版物、其他材料以及针对其他受众的材料, FDA 采用的是相同的管理规则。但是,当 FDA 明确材料主要是为了金融目的而不是向医生和患者中促销产品的用途时,一般不会非常严格地执行这些规则。例如, FDA 从不要求向投资者发布的粗略地提及正进行的研究或最新获得批准产品的年报中附有产品标签。

科学交流: FDA 认为科学交流——科学家之间相互交流研究发现的公认需求是应该被保护的。当这类“交流”与“促销”交叉时(这个界限是很难定义的),就需要 FDA 的管理。

任何一个内容完全受制药公司的控制并有有关具体产品的科学会议,必须符合合理风险和信息公开的所有标准。这意味着所有的材料和发言必须符合已批准的标签。

制药公司知道赞助 CME 项目是能使医疗从业人员了解该公司最新研究成果的方法。FDA 已经建立了详细的规则来控制制药公司的产品及产品类别对合法的 CME 项目的影响。FDA 允许这类公司以由第三方转交资金的方式进行赞助, CME 要独立于公司实施。一般情况下,赞助 CME 项目的公司会与转交资金者签署标准合同并确立特别关系,旨在保证整个项目、演讲者、衍生材料(如专著或出版物)的独立性<sup>[18]</sup>。

展览:由制药公司在医学或其他会议中赞助的展览也受到 FDA 的管理。规章要求展位中的所有材料,包括展位的标题必须符合已批准的标签。FDA 的规章允许学术交流的内容超出批准的标签,只要这些讨论不是促销性质的,是在医疗专家之间进行的,并且在已批准的适应证和新的研究或产品的脱标用途之间有明显的差异。在会议中,公司通常会赞助多个展位,一个用来推广已批准的适应证,其他的用来进行学术交流,在那里可以对新的研究进行讨论。

互联网:互联网给 FDA 的管理带来了前所未有的挑战。FDA 未对制药公司赞助的互联网上的活动发表书面指南,而声称其对互联网上的广告和促销性的声明的管理与其对其他沟通手段的管理是相同的<sup>[19]</sup>。在绝大部分情况下,公司信息中不涉及具体产品的内容可以直接放在互联网上不受管理。同样,已被批准的产品信息只要与标签一致,并能提供方便地获得产品标签的途径也同样可以放在互联网上。与其他网址的链接或聊天室,特别是那些可能含有脱标信息的,及如何控制来源于海外的信息增加了管理的挑战性。

信息要求:制药公司可以回应任何来源于外部的信息要求。不过, FDA 把这些要求分为由公司使用了何种激励方式征集的和完全未经公司征集的两类。

如果信息要求是被征集的,那么,公司在做回答时必须受限于标签的内容。如果完全未经征集的,那么有关脱标使用的问题可不受限于已制定批准的标签。公司可以提供研究情况和其他信息。一般来说,这是由公司内的医学事务部来处理自发的信息要求,公司通常会保留这类要求的记录,以备 FDA 的检查。如果向信息要求者提供了脱标信息,在首页说明信函中必须明确说明 FDA 没有批准这个适应证。

加速批准的药品:由于这类药品是为了避免生命受到威胁的严重状况, FDA 给予了优先的关注,仅提供了有限的或替代的资料就获得批准。FDA 管理规章要求通过此类程序获批的药物的任何广告和促销材料在使用前都必须获得批准。只要这个药物是在加速状态下批准的,在上市期

① FDA 从 1983 年开始管理与产品相关的新闻发布内容。

间及以后使用的材料都要符合这个标准<sup>[20]</sup>。

直接面对消费者的促销：制药企业直接针对消费者的促销始于 20 世纪 80 年代，在 90 年代发展成熟。1996 年，处方药面对消费者的广告支出已经超过了面对医生的广告支出（由于最大的投入在于销售代表和直接面对医生的促销花费，公司面对医生的促销预算仍远高于对消费者的）。

面对消费者的印刷品广告必须符合和面对医生的印刷品广告标准。除了必须准确外，也必须包括益处和风险的“合理的平衡”，必须包括一个有关风险的“简明摘要”。FDA 鼓励公司使用消费者容易理解的语言来印刷“简明摘要”。

根据 1999 年 8 月发布的指南，FDA 允许做面对消费者的电视广告。电视广告中必须包含一个有关风险信息的重要声明。电视广告必须保证消费者能够通过互联网或免费电话获得充足的标签信息，必须声明可以从医生、药师或近期出版物广告中获得额外的信息<sup>[21]</sup>。

FDA 也允许做面对消费者的、不提及产品名称而明确说明某种疾病的症状并督促消费者及时就医的广告。这类广告被称为“求助”广告。但是，FDA 对暗示产品宣传的行为是敏感的，即当广告中没有提及产品的名称，但却可能被正常消费者理解为在特指某个产品。

## FDA 的执法

FDA 通过各种方法监测市场促销行为。官员们参加医学会议，阅读消费者和医学出版物，观看电视。他们还对制药公司的材料在使用前进行检查。另外，FDA 还通过竞争者的抱怨了解市场上的违规行为。最后，处方药所有的广告和促销材料在首次使用前都必须提交给 FDA。材料应提交给 CDER 中的药物销售、DDMAC 或 CBER 中的广告和促销标签部。它们是 FDA 中对药品和生物制品的广告和促销进行管理的部门。

随着 20 世纪 90 年代对广告和促销管理的日益加强，促使制药企业对准备和审核类似的材料投入更多的资源。实际上，所有的公司针对审核促销材料和计划都有书面的政策和流程，包括内部审核过程。他们也必须设立一个注册部来管理这个过程。另外，许多公司还周期性地对员工进行注册知识的培训。定期的培训已成为公司工作的一个重心，公司想保证公司内的每个人，从高管到销售队伍，都要意识到公司对促销和 FDA 法规的处理态度。

当 FDA 发现违规行为时，最常规的做法就是向此公司发送一封越权通告信（过去曾叫“违规通告”或 NOV）或警告信。越权通告信说明 FDA 已经注意到错误行为并在寻求改正的方法，如停止已发布的促销内容。

警告信一般是在很严重的情况下才会发出的，所以其发出频率远低于越权通告信（每年从 DDMAC 发出的警告

信少于 12 份）。FDA 发出警告信则说明确认制药公司已经发生了违规行为并且认为必须采取改正措施。常规的改正措施包括撤销违规材料、公司广泛地散发 FDA 的警告信。FDA 也会采取致“医疗健康专业人士的信”，或诸如强制培训及在此后一段时间内停止该公司任何促销活动的整改方式。例如，FDA 会要求一个公司制作一个纠正错误的电视广告，来说明原先在电视广告里被 FDA 认定为违规的行为。

越权通告信和警告信允许制药公司在 10~15 天内给予回复并提出一个行动计划。制药公司也可以要求 FDA 的调查并对其整改要求的合理性进行讨论。但往往 FDA 有保留采取更严厉的措施的权利。例如，要求签署一个同意判决书。警告信一经 FDA 签发，立即众所周知，从而造成负面的公众影响。越权通告信也是公众可以了解到的。

如果 FDA 发现一个制药公司违反了广告管理规章时，也可以选择其他强制执行手段。如果它感到需要通过同意判决书来保证公司服从，可以与公司协商签署判决书。在 20 世纪 90 年代曾签署了 3 个关于广告违规的同意判决书。针对违规的制药公司和产品，FDA 还可以采取扣押、强制令或判定犯罪行为（轻罪或重罪）。但是这些法律行为更严重并且更耗时，在实际中不太可能发生。FDA 最引人注目的强制行为是向一个多年来涉嫌过度促销某产品的公司处以 5000 万美金的罚款<sup>①</sup>。

## FTC 的管理

FDA 对方药广告和促销具有管理权，而 FTC 则管理 OTC 产品、营养添加剂和医疗器械（除了 FD&C 法案中受限的器械）。FDA 保留对所有医疗产品标签的管理权，包括 OTC 药物和营养添加剂。

FTC 比 FDA 更早享有对广告的管理权。这源于 FTC 法规的第五部分授予委员会阻止制药公司“用不公平的手段进行竞争……和影响商业贸易的不公正的或欺骗的手段和操作”的权利。从法律上说，FTC 保留有一些对方药广告的管理权，但在实际上，甚至是直接面对消费者的广告也已完全归于 FDA 管理了<sup>②</sup>。

FTC 的组织结构、管理方式和执法工具与 FDA 的完全不同。这意味着，实际上处方药和非处方药的广告管理是由不同的系统来调控的。涉及医疗产品的案例由 FDA 和 FTC 共同解决。FTC 没有医学官员，任何 FTC 的行为必须基于 FDA 已批准的标签。二者在 1971 年制定并于 1992 年修订的备忘录中确立的关系下进行合作。

FTC 要求制药公司做任何广告和促销宣传都必须有证据。FTC 可以对某个特定的产品的广告开展调查，更多的时候则是针对一类产品。FTC 的调研可以源于多个途径，

① 三份同意判决书分别是 Syntax、Kabi 和 ICN 公司。处以 5 千万美元罚款的是 Genentech 公司。

② FTC 法规在 16CFR251 和 255 中。

可以来源于任何 5 个委员或半独立的 FTC 职员。委员们必须批准由职员提出的任何执行措施。

FTC 的程序允许在解决任何问题前, 制药公司与 FTC 的官员一起参加正式的讨论。通常 FTC 对调查的处理就是与制药公司签订一个同意判决书, 在其中企业不需承认错误, 只需承诺不再发生同样的错误。不过, FTC 同样也具有使用暂时性约束命令和判定罪责的权力。

多年来, FTC 在很大程度上管理一些边缘产品的广告, 如直接销售给消费者的、保证可以大幅减重或增进体质的医疗器材。

## 处方药的销售法规

药品销售的一个重要方面是通过医生提供给患者药品。1987 年通过的《处方药品销售法》赋予 FDA 管理药品销售工作的权利。它禁止通过非法的商业渠道散发处方药品和生物制品。它同样也禁止销售药物样品。法律规定制药公司要有医生对所有药品样品的签名。法律要求保留记录并仔细保存样品。无论何时, 制造者发现任何散发样品的行为, 必须汇报给 FDA。

按 PDMA 的规定, 医生申请样品必须要有书面申请, 发放样品后要签收。FDA 管理规章要求制药公司建立详细的、书面的程序来控制药物样品的发放, 并保留样品分发记录。

## 反回扣

另一个应用于医疗产品的联邦法律是“反回扣”法。这个法律可追溯到 1972 年, 并不是 FD&C 法的一部分, 而是与《医疗补助和医疗保险条款》相关。

此条款的目的在于阻止在由政府进行支付的医疗补助或医疗保险计划中医疗产品的过度使用和哄抬价格。他们禁止制药公司用任何方式来试图劝说医生或其他医疗保健提供者或组织使用某个产品, 除了有效的临床治疗结论。

法律明确禁止制药公司向任何人提供“任何形式的回扣”(包括任何回扣、贿赂或折扣), 不管是直接地还是间接地, 公开地还是隐蔽地, 以现金还是物品, 以引诱他们购买将由医疗补助或医疗保险计划承担的产品。除此之外, 管理规章也提供了“安全港条款”。

许多公司在内部培训中也包含有“反回扣”条款的内容。健康和人类服务部(HHS)下属的总监办公室负责执行此法。HHS 管理医疗补助和医疗保险计划。任何严重的违规行为将可能面临司法部的刑事指控, 也可能被要求民事赔偿。

## 悬而未决的问题

由 FDA 对广告和促销的管理而引发的许多问题还将继续被争论并缺乏解决的办法。这些问题都需要解决方法,

因为从管理的角度来看只要它们存在, 市场上就存在不确定性因素和不公平的角逐。

在 FDA 的政策中, 最受争议的是限制制药公司发布从一些科学论著中引用但不在 FDA 批准标签中的内容。这个问题在于处于目前可以方便地从新闻媒体和互联网上获得如此多的信息的环境下, FDA 在多大程度上能够或者应该限制脱标信息的发布。

另一个问题是对于发布违规材料哪些是合适的处罚。如果一个公司发布了误导信息, 合适的纠正措施是什么? 是给医疗专业人士的信, 还是纠正性的广告? 进一步地说, 可能更为重要的是, 哪些方法是更有效的? FDA 从未进行过纠正措施有效性方面的研究。

还有一个问题是关于 FDA 应该怎样来管理 DTC 广告。消费者应该接收到多少有关风险的信息, 这类信息的最佳传播途径是什么? 与此一个相关的问题是简明摘要在将来能起什么作用。它是否仍然实用或只是让药品企业增加额外的广告开支?

互联网给 FDA 的管理带来另一个挑战。FDA 对促销的管理效力仅限于美国国内或美国公民。互联网消除了政治上的国家界限, 并使 FDA 不可能管理制药公司在国际上发布的所有内容。

随着新的沟通方式的发展及 FDA、国会和制药方之间重新评估各自合适的作用及管控的范围, 类似于以上的一些问题还会在一定时间内存在。

## 结论

对医疗产品公司的促销活动, 尤其是促销计划的管理, 已经成为食品和药品法规中专门的一部分。法规制定了一系列的方法, 有 FDA 的管理规章、指南、执行办法, 并由管理者们从公众的讨论中进行修订。

法规将随新产品介绍和新的沟通方式而不断发展, 但以一些原则作为基础。即计划和材料不仅必须是真实的, 还必须含有突出的、确切的风险信息, 并且药品制造者不能劝说或诱惑医疗保险提供者应用还未被 FDA 批准的产品。

## 参考文献

1. Holmer, A. F. Direct-to-Consumer Prescription Drug Advertising Builds Bridges Between Patients and Physicians. JAMA Jan. 1999, 380-382.
2. Hollon, M. F. Direct-to-Consumer Marketing of Prescription Drugs. JAMA Jan. 1999, 382-393.
3. IMS Health, press release dated April 20, 2000; available at [www.imshealth.com](http://www.imshealth.com).
4. Pub. L. No. 75-717, 52 Stat. 1040 (1938).
5. Supra, note 4.
6. Pines, W. L., Ed. FDA Advertising and Promotion Manual; [www.thompson.com](http://www.thompson.com) Thompson Publishing Group;

C

Washington, DC.

7. Kessler, D. A.; Pines, W. L. The Federal Regulation of Prescription Drug Advertising and Promotion. JAMA Nov. 1990, 2404-2415.
8. Pines, W. L. Three Principles that Govern FDA Advertising and Promotion Regulation. Drug Information Journal 1997, 31 (1) .
9. FDA Guidance for Industry; Consumer-Directed Broadcast Advertisement. August 1999; [www.fda.gov/cder/guidance/index.htm](http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm).
10. Abrams, T. W. Director, FDA Division of Drug Marketing Advertising and Communication at Drug Information Association meeting Feb. 28, 2000; New York
11. Consent Decree Signed by Kabi Pharmaceuticals. In FDA Advertising and Promotion Manual; [www.thompson.com](http://www.thompson.com) Thompson Publishing Group; Washington, DC.
12. Washington Legal Foundation vs. Henney, 56 F Supp. 2d 81, CD D. C., 1999.
13. Pub. L. No. 105-115, 111 Stat. 2296 (codified at 21 U. S. C. § 360.999, 403 (1998)) .
14. Abrams, Supra note 12.
15. Correspondence Available in FDA Advertising and Promotion Manual. [www.thompson.com](http://www.thompson.com) Thompson Publishing Group; Washington, DC.
16. Pub. L. No. 105-115, 111 Stat. 2296 (codified at 21 U. S. C. § 360.999, 403 (1998)) .
17. Peck, C. Letter to New Drug Application Holders. In FDA Advertising and Promotion Manual; [www.thompson.com](http://www.thompson.com) Thompson Publishing Group; Washington, DC, July 1991.
18. Final Guidance on Industry-Supported Scientific and Educational Activities, 62 Fed. Reg. 64, 075 (Dec. 3, 1997), 61 Fed. Reg. 52, 800 (Oct. 8, 1996) .
19. Abrams, Supra note 10.
20. 21 C. F. R. § 314.550, 601.45.
21. FDA Supra note 9.

### 进一步阅读

FDA Advertising and Promotion Manual, (published monthly); Thompson Publishing Group; Washington, DC.  
Pina, K. R.; Pines, W. L. A Practical Guide to Food and Drug Law and Regulation; The Food and Drug Law Institute; Washington, DC, 1999.

(周洁译)



## 代谢物鉴定在药物发现中的应用

Kathleen Cox

Nigel Clarke

Diane Rindgen

Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, New Jersey, U. S. A.

### 引言

现代新药开发所面临的挑战不仅要求快速筛选大量潜在的先导候选药物,而且要尽可能多地获取它们的相关信息。在投资了数百万美元后,高比例的药物在临床前或临床试验期间失败,因此这一套方法是经济的,而且将使开发向着成功概率最大的先导化合物的方向进行。人们在药物发现过程中引进了许多代谢和药代动力学测定方法作为常规的筛选技术<sup>[1]</sup>。体外方法如Caco 2细胞分析<sup>[2]</sup>、CYP450酶抑制分析<sup>[3,4]</sup>和微粒体<sup>[5]</sup>或肝细胞培养在筛选大量药物时考察其吸收、对常见代谢酶的抑制和代谢稳定性特别有用。体内分析通常难以获得高通量,但由于可从中获得大量药物代谢和药代动力学的有价值信息,达到了药物发现的前沿。为了筛选化合物,新的给药法如卡带式,或多个化合物同时给药法<sup>[6,7]</sup>需要对同一个动物给予多种化合物。这种试验方法存在药物相互作用的风险。另外一种代替卡带式可选的方法包括分析前样品池法<sup>[8,9]</sup>,能够达到高通量的目标且不影响这些药物的药动力学评价。

代谢物鉴别研究提供候选药物的关键信息,这种研究通常在药物研发后期才使用。这种研究不能获得高通量,因为每个化合物都有不同的代谢特征,而且数据评估往往是一个漫长而麻烦的过程。传统研究需要放射性标记的化合物、潜在代谢物的合成标准品和精密复杂的分析仪器。然而,随着近来分析技术和软件的发展,代谢物鉴定研究正在新药物实体的发现阶段发挥着关键作用。早日确定某个特定结构系列的代谢“热点”能为药物化学家提供有价值的信息,推动特定治疗项目中的化学结构改进。另外,早日确定潜在的活性代谢产物或毒性代谢产物,可引导项目的研究向着更有潜力和安全的候选药物的方向进行<sup>[10]</sup>。本章综述了早期代谢物鉴定研究对药物发现的价值,重点讲述液质联用技术(LC-MS/MS)的应用,以及协助分析学家进行关键的快速数据分析的软件的进展,主要论述在小分子上的应用。

### 代谢与药物设计

许多药物候选物因为药代动力学性质不良,如半衰期过长或过短、高清除率或强首过代谢,在研发早期就失败<sup>[11]</sup>。早期评估这些化合物的代谢命运对项目的价值可能

是无法估量的。通常一个特定的项目在发现阶段所研究的化合物结构是非常相似的。药物化学家探究构效关系并精密调节结构,以寻找到最佳选择性和活性且总药动力学特征良好的最终化合物。因为结构上的相似性,往往能确定分子中容易发生代谢修饰的部位。这些结构特征也能用来延长或缩短药物候选物的半衰期。

评价一个结构系列的相似化合物还有另外一个优点,代谢修饰往往具有可预见性。分析工作者能迅速确定某一特定结构最常见的代谢修饰,并能理解任何新的或意外的代谢修饰物。然后实施一个具有相当高通量的筛选方案,迅速评估该结构系列的化合物发生的代谢修饰<sup>[12]</sup>。这对筛选如乙酰葡萄糖醛酸复合物或谷胱甘肽复合物等毒性代谢物尤其有用。在这些情况下,只需知道代谢产物的相对分子质量,就能应用质谱快速评估那些代谢产物在体内外研究中获得样品。利用体外产生的乙酰葡萄糖醛酸复合代谢产物可以评估形成的程度,因而能知道产生毒性的倾向性<sup>[13,14]</sup>。这种分析也可以获得高通量,还可以研究乙酰化葡萄糖苷酸代谢物的稳定性,提供反应性和潜在毒性的相关信息<sup>[15]</sup>。因此,早期代谢物筛选在推动发现化合物中的药物设计方面发挥着重要作用。

### 代谢(代谢特征)的种属差异

哺乳动物种属之间,甚至是性别之间有时呈现出生物组成的差异,尤其是细胞色素P450代谢酶结构和活性的差异<sup>[16]</sup>。因为这些差异,动物种属间可能在药物代谢速度和特征上存在差异。在药物发现中可以通过体外系统如微粒体、肝实质细胞<sup>[17]</sup>、S9片段和肝切片早日预见候选药物在人体内的代谢。因此确定这些体外系统是否产生在其他动物身上不能表达的独特的代谢物很重要。为了确保临床研究的有效性,在动物安全性研究中充分暴露所有的代谢物,对于临床前研究极为重要。虽然体外系统并不总能准确预见体内代谢,尤其对于人类,但了解人类体内的代谢途径并保证动物体内也产生相应的代谢物是很有用的。

### 代谢物的特性与鉴定

明确的代谢物鉴定研究要求对产生的每一种代谢物进行绝对结构鉴定,这是一个劳动密集型过程,需要从特定生物基质(如胆汁、尿液、血浆)中分离出产生的所有代

代谢物,分析代谢物的结构特征并用合成的标准品确证。这种方法需要对一系列的代谢物逐个进行评价。通常代谢物的结构可以通过质谱法阐明,使用精确质谱测量方法得到实验分子式和(或)获得详细的代谢物裂解途径。然而,分析分子结构最准确的技术是核磁共振(NMR),该技术不仅能测定修饰的准确部位,而且能确定代谢物的立体化学结构。NMR的缺点在于它需要大量(毫克级)代谢物以获取确切的结构鉴定数据,而LC-MS/MS通常只需纳克级甚至皮克级的物质就能进行结构鉴定。只有在某个化合物进入开发阶段才需要上述细节性分析,而在药物发现中是不需要的。通常在这个阶段,只需知道分子结构中易发生代谢的部位就可以了。此外,这种技术不必系统分离和纯化每一种代谢物,事实上可以进行并行分析,在一次色谱分离中对单个样品的所有代谢物进行评估。

## 仪器

高效液相色谱与质谱联用(HPLC-MS/MS)是一项适于代谢物鉴定的理想分析技术<sup>[18,19]</sup>。色谱条件足以使分析物和代谢物从背景中分离出来,质谱检测器选择性和灵敏度高,可以鉴定复杂生物基质中的低浓度代谢物。市面上有各种类型的质谱仪,每一种都在代谢物结构鉴定上有独特的性能和优点。几种LC-MS/MS系统互相补充,联合应用功能强大,可以提供完整的代谢物结构特征。

三重四级杆质谱是所有联用质谱仪中公认的功能最齐全的,在新化合物的代谢物早期评价中发挥重要作用<sup>[20-22]</sup>。这种仪器可以进行数种质谱试验,而不需要预知代谢物的信息,只需要药物原型的合成标准品。化合物离子化后进入三重四级杆质量仪的碰撞室,然后与气体分子发生碰撞而碎裂成小的片段。裂解方式是化合物的结构所特有的,许多代谢物通常具有与原型药物相似的结构特性,因此代谢物和原型药物通常碎裂出相同的结构片段。三重四级杆质谱仪能进行母离子扫描,在这种模式下,所有的离子都进入碰撞室并发生碎裂,然后碎片进入质谱另一个室进行分析。与原药产生相同碎片的离子可以追溯其母离子(即代谢物)。这样,可以测定代谢物的相对分子质量并获得结构信息。这是一个具有相当高选择性的扫描过程,因此基质或背景离子因为没有包含与原药相似的结构特征而不能检测到。另外一个相似的扫描技术能寻找在碰撞室裂解后产生的潜在代谢物的中性片段。这对代谢复合物非常有用,如谷胱甘肽、葡萄糖醛酸和硫酸复合物在碰撞室中会发生特征中性碎片丢失。这种被称为恒定中性丢失扫描试验非常通用,不需要原药的任何预知信息。母离子扫描和中性丢失扫描可以在液相分离时间范围内进行代谢物鉴定试验<sup>[23]</sup>。上述扫描试验一旦发现某种推定的代谢物,可以通过第三种称为子离子扫描试验的扫描技术进一步确证。子离子扫描仅允许推定代谢物的离子进入碰撞室。代谢物碎裂成结构特征的片段,一些碎片与原药产生的碎片相似,一些不同。比较推定代谢物与原药的子离子质谱图

可以提供大量有关代谢修饰和代谢物结构的信息。

通常上述试验能指出药物发生代谢的部位,而不能完全鉴定代谢物本身的结构。然而,如前所述,这在发现阶段就足以提示结构化学家分子中易发生代谢变化的部位,但有时需要进一步的试验以确认发生代谢修饰的部位和性质。

另外一种进行子离子扫描试验的仪器是离子阱质谱仪。它与三重四级杆质谱仪的区别在于它能对一个化合物进行多重子离子扫描。例如,一个潜在的代谢物在MS/MS的第一阶段碎裂成数个特征碎片离子。然后其中之一可进一步碎裂成更小的离子,这个MS/MS的第二阶段被称为MS<sup>n</sup>。这个过程可以此类推(MS<sup>n</sup>)<sup>[24,25]</sup>,直到确定代谢修饰的位点或不能再产生有价值的碎片离子。

高分辨/精度联用质谱仪也在代谢物鉴定中发挥作用。这种仪器能精确测定潜在代谢物或其碎片之一的相对分子质量。虽然市面上可以买到多种高精度质谱仪,但其中对代谢物鉴定试验最有用的是四级飞行时间(Q-ToF)质谱仪。其他仪器如四区质谱仪或傅里叶变换质谱仪能得到更高的分辨率和质量精度,然而它们麻烦且昂贵,需要特殊训练的操作员。代谢物鉴定的对象通常只含有机原子,分子质量较低(<1000Da),超高分辨和精度不是必需的。此外,Q-ToF质谱仪被证明具有相当的适用性,能评价像胆汁这样脏的生物基质中低水平的代谢物。当两个潜在代谢物名义相对分子质量相同时,高精度质谱仪就显得特别有效。两个结构的名义相对分子质量相同,但精确质量不一样<sup>[26]</sup>。

在过去的十年里,质谱仪取得了很大的进步。所有上述仪器适用性均很好,而且可用于常规分析。联用质谱仪不仅可以在市面上买到,而且一起使用时可以提供一个功能强大的互补代谢物鉴定手段。图1解释了各种MS/MS技术互补的性质和功用。为了最有效地发挥仪器的作用,必须建立相同的前端装置。所有系统应装配相同的LC和进样系统,质谱仪应与反射性流动检测器并行设置。如此,样品就可以简单地从一个系统转移到另外一个以进行进一步的分析。如果样品是放射性的,出色谱柱后的LC洗脱液分流,一部分进入质谱仪,另一部分进入放射性流动检测器。系统也可配置在线紫外(UV)检测器或其他类似的检测器。然而,在药物发现过程中,样品通常是很脏的,代谢物浓度远低于基质浓度,因而检测器具有相当水平的选择性非常有用。

新药实体的代谢特征可以在多种生物基质中考察。体外基质背景较干净,代谢物浓度可以通过控制培养条件而调节。然而,一个体外系统并不总能模拟所有的代谢途径。体内系统能获得最全面的代谢特征,在排泄物(如胆汁、尿液、粪便)中能观测到代谢物的最高浓度。因为在发现阶段早期评价这些化合物,所以这些试验通常只对它们的代谢物进行初步研究。基于上述理由,常规样品处理,如固相萃取或液-液萃取,存在除去新代谢物的风险。此外,新化学实体通常是没有放射性的,所以没有方法追踪到样品处理过程是否发生了重要代谢物丢失。如果样品(胆汁、尿液、血浆)能直接进样,那么代谢物就能得到更全面的

分析。这对适用性广、灵敏度高和选择性强的检测系统提出了更高要求。

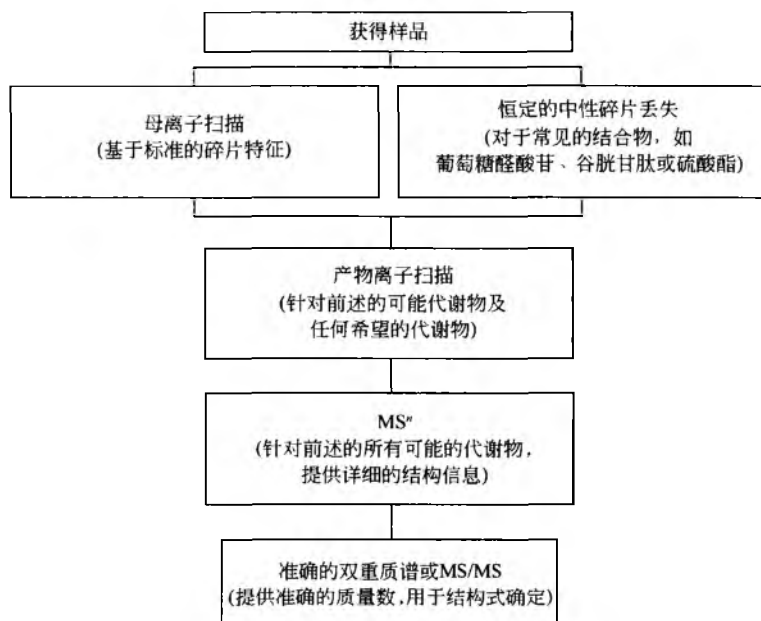


图1 代谢物鉴别和鉴定的系统方法

## 软件

不难想象上述 MS 试验能产生大量数据，为操作者留下了令人望而生畏的任务，用户要对每一个色谱峰进行人工分析。然而最近几年软件技术取得了显著进步，允许计算机在预设的标准和规则下准确地分析这些大型数据集。这不仅大大提高了数据的处理量，而且使操作者能够自由设计另外的试验，从而在更短的时间内对代谢物进行更全面的分析。如前所述，采用体内样品（通常是胆汁和尿液）进行代谢物鉴定最全面，获取的信息最多。尤其胆汁是一种相当脏的基质，主要由多种胆盐组成，这些组分有可能淹没潜在代谢物产生的信号。由于这些样品很少或完全没有净化措施，产生的质谱图将非常复杂。现有的计算机程序能对这些样品进行详细的背景扣除，事实上消除了基质对谱图的影响。为了达到这个目的，LC-MS/MS 系统进行两个独立的试验。先对目标样品进行分析，然后对含有适量生物基质的空白样品进行分析。两个试验的分析条件是一样的，计算机只是将空白样品中出现的峰从目标样品的色谱数据中扣除，这大大简化了获得的质谱图，而且在很多情况下能将化学噪声淹没的代谢物信号显露出来。

另外一种软件基于许多潜在的候选药物含有体内非天然存在的同位素原子，尤其是氯原子和溴原子，在质谱图上能给出独特而有鉴别性的信号。计算机能分析样品数据集，从中挑选出具有这些特征性的同位素色谱峰。图2（美国制药评论授权翻印）显示了这些软件程序是如何简化复杂色谱图的。这个化合物含有氟标记，（a）显示与放射性

代谢物相应的峰。（b）显示无软件介入的总离子色谱图（即相对分子质量范围为300~1000）。背景扣除程序极大简化了色谱图，如（c）所示。最后，由于这个化合物含有一个氯原子，所以采用同位素簇算法进一步简化了色谱图，如（d）所示。注意最后的图形已经很类似放射性图谱了。

此外，计算机能识别一系列潜在或常见的代谢物，如羟基化产物、去甲基化产物或混合代谢修饰物。如果用户知道某一给定结构系列的化合物所特有的罕见代谢过程，可对大多数软件包进行设定以识别这些代谢修饰。只需要给出原药的相对分子质量，软件就能计算出相应代谢物的相对分子质量并在质谱图中寻找它们。此外，给出一系列评价标准后，计算机能分析观测到的峰的完整性以判断它们是否代表真实的实体。判断标准可由用户指定，由分析信号对背景噪声的相对高度和峰宽等因素组成。这项技术如果与高精度质谱数据结合，功能会更强大，这是因为潜在代谢物的相对分子质量可以精确测定，从而与其他具有相同名义相对分子质量而精确的相对分子质量不同的污染物区分开来。

目前市面上多数商业软件包提供浏览窗口，用户可以看到计算机挑选出的潜在代谢物峰，并由用户最终决定这些峰是否作为潜在代谢物进一步解析。然后这些软件能自动建立另外的 MS/MS 试验对代谢物进行鉴定，显著减少了用户介入的必要性。这些试验可以设定在夜间自动运行，用户在第二天早上评价得到的结果。这种数据“采集”方式提供了一条评价质谱产生的大量数据的有效途径，显著减少了用户人工解析任务并增大了代谢物鉴定试验的处理量。图3（美国制药评论授权翻印）显示了代谢物软件鉴定过程的流程图。

D

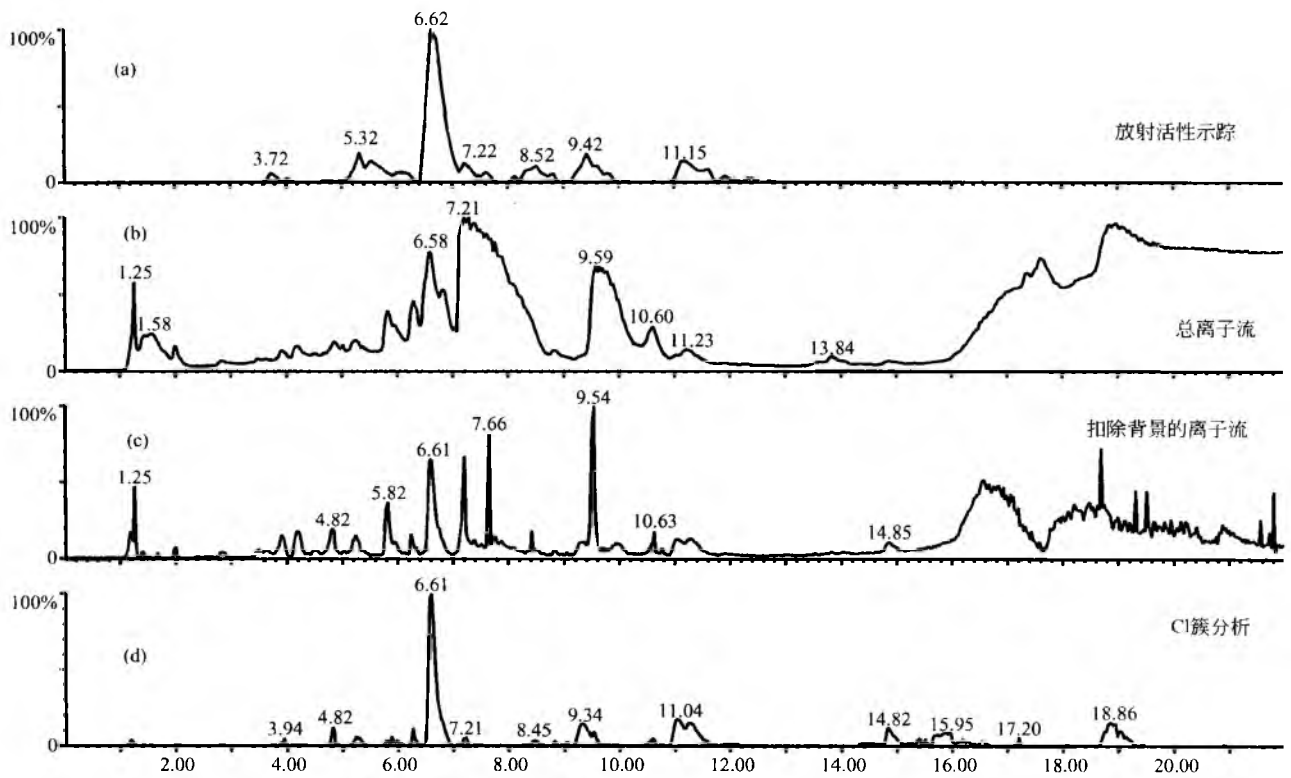


图 2 大鼠胆汁中的化合物 X 使用不同的软件扣除方法的分析结果

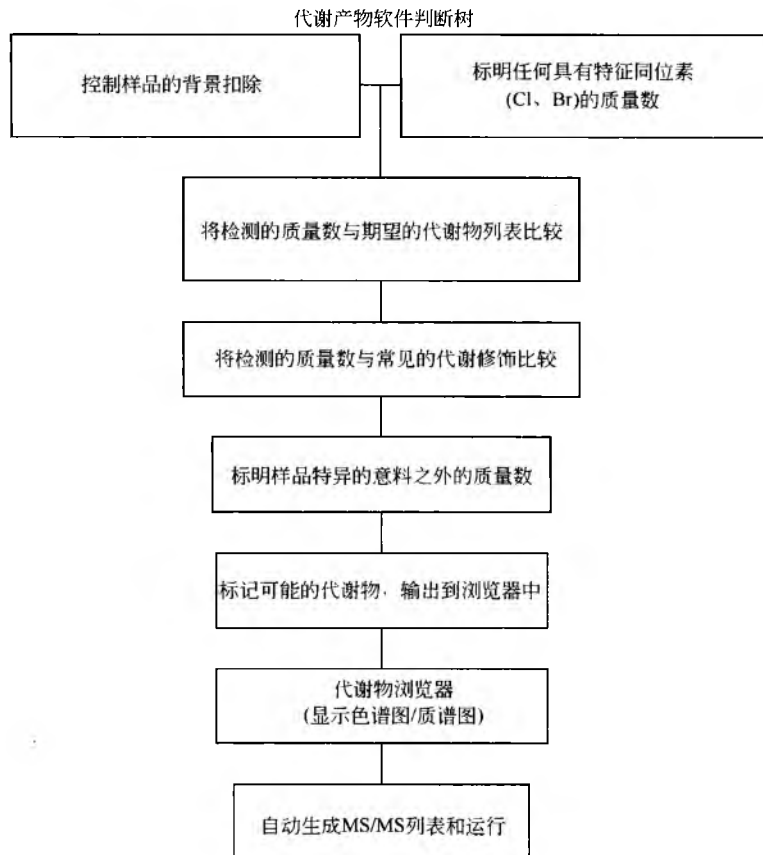


图 3 代谢物软件判定树<sup>[26]</sup>

## 结论与未来趋势

代谢物鉴定研究对早期药物发现具有重大贡献。了解形成何种代谢物能引导结构化学的研究向着更有效的药物方向进行,因而对于药物发现项目具有极大的重要性。利用体外系统早期研究人体代谢,确保其他种属动物也能产生人体酶产生的代谢物。这提高了候选药物进入临床研究的成功率。然而,直到最近几年随着 LC-MS/MS 应用技术硬件和软件的进步,将这些研究引入高通量药物发现才得以实现。重新定义代谢物鉴定试验在药物发现中的目标是重要的。一个系列的多种化合物需要在一个相当短的时间内得到评价,通常快速指出分子中易发生代谢的位点比花费数月来阐明某一个代谢物的立体结构更重要。此外,样品体积小而且极少是放射性标记的。LC-MS/MS 是一种功能强大的分析技术,可以在上述情形下有效地分析样品。质谱仪是选择性好、灵敏度高的检测器,可以检测并鉴定复杂生物基质中的低浓度代谢物。在 MS/MS 的母离子扫描和恒定中性丢失扫描模式下,质谱仪能在复杂混合物中寻找与原型药物具有相同结构的化合物,而通常只需极少的预知信息。子离子扫描试验获取的数据能进一步阐明潜在代谢物的结构特征。运用离子阱质谱 (MS<sup>n</sup>) 和高精度质谱可以缩小修饰的位点,甚至进一步洞悉代谢物的经验式。这些互相补充的 MS/MS 技术综合运用成为一项高效而全面的代谢物鉴定途径。

“智能”型软件近来的发展使计算机能快速而准确地评估大型复杂的数据集。这显著减少了用户人工解析数据的工作量,大型数据集能得到更快的评估。然而,数据解析仍然是至关重要的,将继续成为更高通量研究的瓶颈。为此,软件为适应用户的需求不断改进。数据依赖性扫描正向着最大限度利用一次进样的方向发展。一旦计算机在 LC 运行中检测到某一潜在的代谢物,就能自动地转换到联用模式以快速提供该代谢物的结构信息。这种试验具有很大的潜力,然而对如胆汁等极脏的样品仍然是有问题的。

未来的软件应该能够利用如放射流动检测器或紫外检测器等的外部检测器的输入信息,以进一步增强产生的数据。另外,一些软件能解释 MS/MS 图谱,并提供观测到的碎片离子的结构建议。CODA 等精确的程序可以进一步区分数据,集中真实的化学信号和随机噪声,并对复杂基质进行校正分析,挑选出潜在的代谢物,以及测定代谢物与原型药物的相似度<sup>[27]</sup>。也有一些研究者正尝试利用互联网,建立与已知代谢物数据库的链接。一旦试验中发现了某种代谢物,该软件能搜索数据库,判断以前是否有人研究过该类型的代谢修饰并在何种试验条件下进行。

在药物发现过程中,进行代谢物鉴定的研究仍然是一个需要大力改进的过程。近年来已取得了技术上的巨大进步,科学家们继续改造和发展现有的技术以满足药物发现的严格要求。尽管代谢物鉴定绝不是“高通量”的,但现有的试验技术能给药物发现项目组提供及时和有价值的信

息,推动先导化合物的改进并解答重要的代谢问题,这最终将为制药企业节约时间、金钱和资源。基于对这些研究价值的认识,可以断言代谢物鉴定研究在药物发现中所起的作用将会增大。

## 参考文献

1. White, R. E. High-throughput screening in drug metabolism and pharmacokinetic support of drug discovery. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2000, 40, 133–157.
2. Caldwell, G. W.; Easlick, S. M.; Gunnet, J.; Masucci, J. A.; Demarest, K. In vitro permeability of eight beta blockers through Caco-2 monolayers utilizing liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 1998, 33, 607–614.
3. Palamanda, J. R.; Favreau, L.; Lin, C. C.; Nomeir, A. A. Validation of a rapid microtiter plate assay to conduct cytochrome P450 2D6 enzyme inhibition studies. *Drug Discov. Today* 1998, 3, 466–470.
4. Chu, L.; Favreau, L.; Soares, T.; Lin, C. C.; Nomeir, A. A. Validation of higher-throughput high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry assays to conduct cytochrome P450s CYP2D6 and CYP3A4 enzyme inhibition studies in human liver microsomes. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2000, 14, 207–214.
5. Korfmacher, W. A.; Palmer, C. A.; Nardo, C.; Dunn-Meynell, D.; Grotz, D.; Cox, K. A.; Lin, C. C.; Ellicone, C.; Liu, C.; Ducholsav, E. Development of an automated mass spectrometry system for the quantitative analysis of liver microsomal incubation samples: A tool for rapid screening of new compounds for metabolic stability. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1999, 13, 901–907.
6. Shaffer, J. E.; Adkison, K. K.; Halm, K.; Hedeon, K.; Berman, J. Use of “N-in-one” dosing to create an in vivo pharmacokinetic database for use in developing structure-pharmacokinetic relationships. *J. Pharmaceut. Sci.* 1999, 88, 313–318.
7. Olah, T. V.; McLoughlin, D. A.; Gilbert, J. D. The simultaneous determination of mixtures of drug candidates by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry as an in vivo drug screening procedure. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1997, 11, 17–23.
8. Cox, K. A.; Dunn-Meynell, K.; Korfmacher, W. A.; Broske, L.; Nomeir, A. A.; Lin, C. C.; Cayen, M.; Barr, W. H. Novel in vivo procedure for rapid pharmacokinetic screening of discovery compounds in rats. *Drug Discov. Today* 1999, 4, 232–237.

9. Hop, C. E.; Wang, Z.; Chen, Q.; Kwei, G. Plasma-pooling methods to increase throughput for in vivo pharmacokinetic screening. *J. Pharm. Sci.* 1998, 3, 901-903.
10. Lin, J. H.; Lu, A. Y. H. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development. *Pharmacol. Rev.* 1997, 49, 403-449.
11. Prentis, R. A.; Lis, Y.; Walker, S. R. Pharmaceutical innovation by seven UK-owned pharmaceutical companies (1964-1985). *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1988, 25, 387-396.
12. Clarke, N. J.; Rindgen, D.; Korfmacher, W. A.; Cox, K. A. Systematic LC/MS metabolite identification in drug discovery. *Anal. Chem.* 2001, 73, 431A-439A.
13. Grotz, D. E.; Clarke, N. J.; Cox, K. A.; Korfmacher, W. A. An In Vitro Method for the Assessment of Acyl Glucuronide Metabolite Formation Early in Drug Discovery Using HPLC-MS/MS; Proceedings of the 49th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Chicago, IL, May 27-31, 2001.
14. Rindgen, D.; Grotz, D.; Clarke, N. J.; Cox, K. A. The application of HPLC/tandem mass spectrometry for the assessment of acyl glucuronide formation in in vitro and in vivo systems in a drug discovery environment. *Am. Pharm. Rev.* 2001, 4, 52-58.
15. Hop, C. E. C. A.; Rabe, M.; Wang, Z.; Pang, J.; Leung, K. H.; Franklin, R. B. Formation and Reactivity of Acyl Glucuronides Assessed by LC-MS/MS; Proceedings of the 48th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Long Beach, CA, 2000.
16. Lindberg, L. P.; Negishi, M. Alteration of mouse cytochrome P450c<sub>1</sub> substrate specificity by mutation of a single amino acid residue. *Nature (Lond.)* 1989, 339, 632-634.
17. Stevens, J. C.; Fayer, J. L.; Cassidy, K. C. Characterization of 2-[4-[2-(1H-tetrazol-5-ylmethyl)phenoxy]methoxy]methyl quinoline N-glucuronidation by in vitro and in vivo approaches. *Drug Met. Dispos.* 2001, 29, 289-295.
18. Lee, M. S.; Kerns, E. H. LC/MS Applications in drug development. *Mass Spectrom. Rev.* 1999, 18, 187-279.
19. Korfmacher, W. A.; Cox, K. A.; Bryant, M. S.; Veals, J.; Ng, K.; Watkins, R.; Lin, C. C. HPLC-API/MS/MS; a powerful tool for integrating drug metabolism into the drug discovery process. *Drug Discov. Today* 1997, 2, 532-537.
20. Perchalski, R. J.; Yost, R. A.; Wilder, B. J. Structural elucidation of drug metabolites by triple quadrupole mass spectrometry. *Anal. Chem.* 1982, 54, 1466-1471.
21. Betowski, L. D.; Korfmacher, W. A.; Lay, J. O., Jr.; Potter, D. W.; Hinson, J. A. Direct analysis of rat bile for acetaminophen and two of its conjugated metabolites via thermospray liquid chromatography/mass spectrometry. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* 1987, 14, 705-709.
22. Kerns, E. H.; Rourick, R. A.; Volk, K. J.; Lee, M. S. Buspirone metabolite structure profile using a standard liquid chromatography-mass spectrometric protocol. *J. Chromatogr. B* 1997, 698, 133-145.
23. Busch, K. L.; Glish, G. L.; McLuckey, S. A. Mass Spectrometry/Mass Spectrometry: Techniques and Applications of Tandem Mass Spectrometry; VCH Publishers Inc.; New York, 1988.
24. Stafford, G. C., Jr.; Kelley, P. E.; Syka, J. E. P.; Reynolds, W. E.; Todd, J. F. J. Recent improvements in and analytical applications of advanced ion-trap technology. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* 1984, 60, 85-98.
25. Louris, J. N.; Cooks, R. G.; Syka, J. E. P.; Kelley, P. E.; Stafford, G. C., Jr.; Todd, J. F. J. Instrumentation, applications and energy deposition in quadrupole ion trap MS/MS spectrometry. *Anal. Chem.* 1987, 59, 1677-1685.
26. Cox, K. A.; Clarke, N. J.; Rindgen, D.; Korfmacher, W. A. Higher throughput metabolite identification in drug discovery: Current capabilities and future trends. *Am. Pharm. Rev.* 2001, 4, 45-52.
27. Fernandez-Metzler, C. L.; Owens, K. G.; Baillie, T. A.; King, R. C. Rapid liquid chromatography with tandem mass spectrometry-based screening procedures for studies on the biotransformation of drug candidates. *Drug Metab. Dispos.* 1999, 27, 32-40.

(丁寿刚 译)

# 单克隆抗体在药物靶向给药系统中的应用

Ban-An Khaw

Northeastern University, Boston, Massachusetts, U. S. A.

## 引言

20 世纪初, Paul Ehrlich 在治疗梅毒螺旋杆菌时提出了“神奇导弹”的概念<sup>[1]</sup>, 这可以看作靶向给药的起源。1948 年 Pressman 和 Keighley 两人提出放射性标记的抗体可以定向于大鼠的肾脏, 从而正式开启了靶向给药的概念<sup>[2]</sup>。抗体因而成为特殊的药用制剂, 它可以携带放射性同位素标记物到不同的病灶, 对于包括肿瘤在内的多种疾病进行诊断及治疗。Kohler 和 Milstein 两人发表的有关单克隆抗体技术的革命性论文再一次极大地推动了抗体在靶向给药中的应用<sup>[3]</sup>。单克隆抗体从此主导了靶向给药系统的“靶向”定位作用。

靶向给药系统由以下要素构成: ①具有靶向作用的实体; ②被靶向的药物。具有靶向作用的实体可以是受体、配体、寡核苷酸、激素以及抗体。被靶向的药物可以是放射性同位素、药物制剂、免疫化学制品、化学制品、毒素以及生物制品。这样“靶向给药系统”这个概念才较完整。但是在实际中, “靶向给药”这个概念则有一定的局限性, 文献检索时输入“靶向给药系统”, 常常会得到一些关于抗体介导的脂质体给药系统的相关文献。其实抗体、双特异性抗体、抗生物素蛋白-生物素抗体等介导的给药系统也应该包含在内。抗体在肿瘤的靶向给药系统中可以达到初级(primary)靶向作用, 类似地, 它也可以在心血管疾病中发挥同样的作用。本章主要研究以抗体为靶向实体的靶向给药系统在心血管疾病方面的应用, 同时对肿瘤靶向做了一个粗略的概述。

## 抗体在肿瘤成像中的应用

Pressman 和 Keighley 首先提出放射性碘标记的抗体在小鼠体内可以定向地靶向于肾脏<sup>[2]</sup>。很多的研究者由此认识到放射性同位素的靶向给药系统在肿瘤的治疗以及诊断领域具有很大的前景。但是由于缺少肿瘤的特定靶位信息、缺少可用于体内试验的纯抗体以及合适的标记抗体的放射物质等诸多原因, 该项技术在数十年的时间里进展非常缓慢。Mach<sup>[4]</sup>和 Goldenberg<sup>[5]</sup>两个实验室都成功地将癌胚抗原(CEA)所对应的多克隆抗体应用于肿瘤成像, 随后他们通过使用单克隆抗体表明应用放射标记的抗 CEA 的抗体可使肿瘤成像<sup>[6,7]</sup>。

初期选用免疫球蛋白片段或者是经同位素 I-131 标记的纯化的亲和的抗体片断、单克隆抗体以及新型的获得批准的同位素标记方法用于肿瘤造影技术, 便于研究者进行胸

腔<sup>[8]</sup>、结肠以及肺<sup>[10]</sup>、卵巢<sup>[11]</sup>、前列腺癌<sup>[12]</sup>等成像。实际上在实验和临床应用中, 黑色素瘤<sup>[13]</sup>以及 T 淋巴瘤<sup>[14]</sup>、胰腺癌<sup>[15]</sup>等各种形式的癌症都可以用多克隆以及单克隆抗体造影成像。用 Tc-99m、In-111、I-123 等放射性同位素标记抗体, 可以有效地改善  $\gamma$  成像的效果。双特异(bispecific)单克隆抗体<sup>[16]</sup>以及多步(multistep)卵白素-生物素键合抗体等放射性免疫技术的发展, 降低了对非靶向器官的作用, 增加了靶向效率<sup>[17]</sup>。

抗体已经被应用于免疫治疗和放射性免疫治疗。特异性抗体激活补体, 聚集炎症细胞, 并且诱导细胞因子的产生, 由此看来免疫治疗本身就具有靶向, 如癌基因蛋白单克隆抗体可以与转移性乳腺癌中过量表达的 ErbB2 细胞结合, 从而抑制细胞的生长<sup>[18]</sup>。同样地, Rituxan (B 细胞单克隆抗体)可以与非霍奇金淋巴瘤<sup>[19]</sup>中过度表达的 CD20 细胞结合, 从而诱导肿瘤细胞的凋亡<sup>[20]</sup>。另一方面放射免疫治疗对于特定的肿瘤有很大的作用, 鼠-人嵌合的单克隆抗体和  $\beta$  射线辐射联合的放射免疫治疗应用于卵巢癌的靶向治疗前景乐观<sup>[21]</sup>。

经检测证实, 免疫毒素是由肿瘤相关抗原的特异性抗体连接上蓖麻毒素、相思豆毒素或其他毒素构成。虽然能够预期到在肿瘤治疗中的实验结果, 但是进展却非常缓慢。唯一一个明确成功的例子就是将在体外清除了癌变细胞的骨髓细胞注射回接受了全身放射治疗的血癌患者体内<sup>[22]</sup>。另外也有人将抗体与阿霉素等药物共价结合, 形成免疫交联物, 从而实现对肿瘤细胞的靶向<sup>[23]</sup>。此外免疫脂质体也可以实现对特定肿瘤的靶向<sup>[24]</sup>。

虽然这些新方法都利用单克隆抗体实现药物的靶向, 但是单克隆抗体在肿瘤治疗中并不能达到像 Paul Ehrlich 提出的“神奇导弹”一样的精确的靶向作用。因此除了用放射性单克隆抗体诊断成像和直接免疫治疗外, 其他新型的靶向给药系统在临床方面只取得了有限的成绩。

## 靶向给药在心血管系统方面的应用

如上所述, 抗体在药物靶向给药系统中不仅可以提供特异的靶向, 还可以作为药物的载体。不管被载药物是用于成像或治疗的放射性同位素还是抗代谢产物(antimetabolite), 例证的原型模型都是靶向给药的放射性标记抗体。

最初将抗体应用到体内心血管靶向是 1976 年, 有人通过实验论证了将经过放射标记的抗肌球蛋白抗体用于急性心肌梗死诊断的可行性<sup>[25]</sup>。自从那时开始, 抗体在心血管

## D

方面的应用逐渐涵盖了心肌炎<sup>[26]</sup>、心脏移植排斥<sup>[27]</sup>、心肌梗大<sup>[28]</sup>、酒精诱导的心肌病<sup>[29]</sup>、阿霉素引起的心脏毒性反应<sup>[30]</sup>以及各种心肌疾病<sup>[31]</sup>、血管凝闭<sup>[32]</sup>、动脉粥样硬化<sup>[33]</sup>，甚至包括一些癌症如软组织肉瘤<sup>[34]</sup>等。迄今为止在心血管诊断靶向方面研究最多和最透彻的是单克隆抗肌球蛋白抗体的 Fab，因为它可以准确特异地检测到多种心肌疾病导致的细胞凋亡。

## 放射标记的抗肌球蛋白抗体在急性心肌梗死靶向给药中的应用

为了实现药物的靶向，病理条件下人体内必须存在一种特殊的被靶向的结构，这种结构可以与靶向试剂结合，但正常的非靶向器官或细胞不表达这种结构，或者这种靶向结构是一种随着病理条件进展而暴露出来的新结构。因为正常的心肌细胞和坏死的细胞的细胞膜都是由脂质双分子层组成的，所以我们不能想象特异性地靶向于坏死细胞的细胞膜结构。但我们有理由认为在正常心肌细胞中心肌肌丝并没有暴露于细胞外，而心肌细胞坏死后肌丝往往就会与细胞外环境接触<sup>[35]</sup>。因此利用这个特征可以区别正常的心肌细胞以及坏死的细胞，从而实现坏死细胞的靶向。抗心脏肌浆球蛋白抗体可以作为靶向体系的一部分，用于诊断成像急性心肌梗死<sup>[25]</sup>。上述的假说已经被下面的实验证明，实验利用缺氧条件下的新生鼠心肌细胞，往培养液中加入抗肌球蛋白抗体，使之与预先装载了活性药物的直径为  $1\mu\text{m}$  的聚苯乙烯颗粒共价结合，以实现药物的靶向<sup>[35]</sup>。正常的心肌细胞具有完整的肌纤维膜，可以阻止抗肌球蛋白抗体微粒的黏附聚集（图 1a），但是缺氧可以导致心肌细胞肌纤维膜的缺损，所以在缺损部位实现了抗肌球蛋白抗体的微粒的靶向（图 1b）。在高倍镜（ $\times 100\ 000$ ）下观察，可以发现抗肌球蛋白抗体微粒被肌丝包围（图 1c）。这种特定的对坏死心肌的靶向作用也可以通过在体实验和临床  $\gamma$  成像技术来证实。

为了确认抗肌球蛋白 Fab 是否真的对坏死心肌具有特定高效的靶向效果，实验人员分别用 I-125 标记抗肌球蛋白抗体，用 I-131 标记正常 IgG，然后将两者混合通过冠状动脉注射进入急性心肌梗死的狗模型中<sup>[36]</sup>。实验人员采用  $\gamma$  闪烁计数器测量两种放射标记的免疫球蛋白的靶向效果<sup>[36]</sup>。在坏死的心肌的梗死部位，用 I-125 标记的抗肌球蛋白抗体实现靶向与未实现靶向的比例约为 32 : 1，而在同一组织非特异靶向的比例为 6.5 : 1<sup>[36]</sup>。同样地，实验人员为了在体内证明抗肌球蛋白抗体对坏死心肌细胞的特异靶向，采用了非特异的 In-111 放射标记的 Fab 片段作为对比。在患有急性心肌梗死的狗体内注射 In-111 标记的特异的抗肌球蛋白抗体 Fab（图 2a）和非特异的 Fab（图 2b）后观察发现：前者可以有效地聚集在心肌梗死处，而后者没有明显的靶向效果<sup>[37]</sup>。

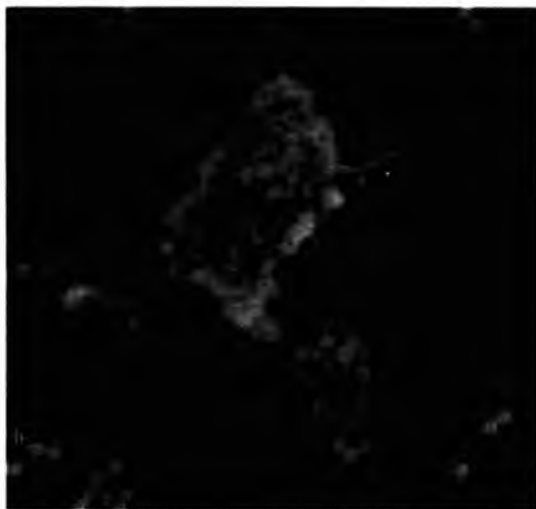


图 1 用含接有抗肌球蛋白抗体的直径为  $1\mu\text{m}$  的荧光聚苯乙烯颗粒培养液培养的新生鼠的心肌细胞的电镜扫描图。a. 正常的心肌细胞，细胞膜完整，且无抗肌球蛋白抗体微粒的吸附；b. 坏死的心肌细胞，缺损的细胞膜上吸附有抗肌球蛋白抗体微粒；c.  $100\ 000$  倍高倍镜下观察细胞膜缺损部位，含肌球蛋白的肌丝包裹着含抗肌球蛋白的微粒



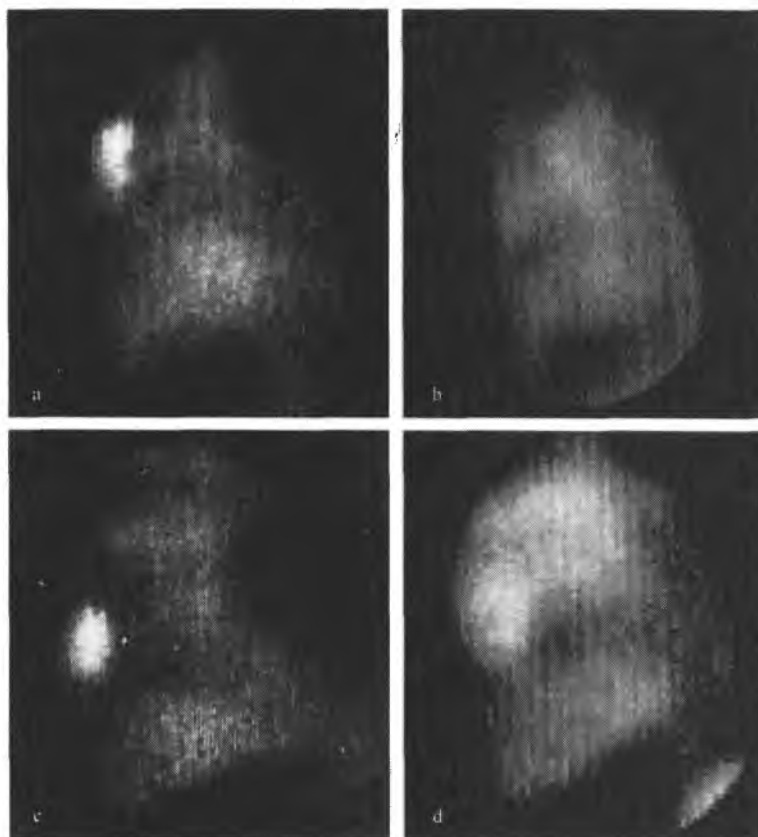


图2 四只患有急性心肌梗死的模型狗的 $\gamma$ 成像图。其中a和c注射了经 $\text{In}^{111}$ 标记的高亲和性抗肌球蛋白抗体 Fab [ $K_a = (0.5 \sim 1) \times 10^9 \text{ L/mol}$ ], b注射了标记的非特异性单克隆抗体, d注射了标记的低亲和性 3H3 抗肌球蛋白抗体 ( $K_a = 5 \times 10^6 \text{ L/mol}$ ), 注射 5 个小时后, 只有注射有高亲和性的抗肌球蛋白抗体的狗在梗死部位才有明显的抗体聚集现象, 而那些注射非特异性的或者是亲和性较低的抗体则只有血池放射显示 (blood pool activity)<sup>[37]</sup>

为了进一步确认抗肌球蛋白抗体对急性心肌梗死的高效特异的靶向作用, 研究人员在急性心肌梗死的狗身上分别使用了两种具有不同亲和力的单克隆抗肌球蛋白抗体, 以观察其靶向效果。虽然低亲和力的抗体 Fab (3H31E6) 与肌球蛋白的结合也具有特异性, 但是由于其亲和力较低, 表观亲和常数约为  $6.5 \times 10^6 \text{ L/mol}$ , 所以体内注射 5h 后仍没有发现靶向效果 (图 2d), 而高亲和性的抗肌球蛋白 Fab (R11D10) ( $1 \times 10^9 \text{ L/mol}$ ), 在体内静脉注射 1h 后就看到在梗死部位有分布, 随后更明显 (图 2c)<sup>[37]</sup>。通过计算机测面法测定 $\gamma$ 成像中靶向 (T) 和血池活度 (B) 的比例, 高亲和抗体的靶向效率  $T/B$  为  $1.7 \pm 0.38$ , 比低亲和力的抗体 3H31E6 Fab ( $0.85 \pm 0.12$ ) 明显要高。后者的  $T/B$  值与非特异的抗体的  $T/B$  值相差无几 ( $0.75 \sim 0.771$ )<sup>[37]</sup>。另外一个单克隆抗体 Fab (2G42D7) 的亲和力和 R11D10 相近,  $T/B$  比值为  $1.5 \pm 0.27$  ( $p = 0.13$ )。这些研究表明: 体内成功的精确靶向不仅仅要求抗肌球蛋白抗体对急性心肌梗死有特异性, 而且还要求所用的抗体在体内有较强的亲和性。

图 3 显示的是两名分别患有永久性冠脉左前降支

(LAD) 堵塞和再灌注 LAD 的患者注射用  $\text{In}^{111}$  标记的抗肌球蛋白抗体 R11D10 Fab<sup>[38]</sup> 后的心脏 $\gamma$ 造影图像, 在被闭塞的冠状血管包被的心脏的对应区域看到明显的放射性药品靶向。而在心脏没有梗死的患者中没有发现放射性。

尽管抗肌球蛋白 Fab 可以对急性心肌梗死精确定位, 但由于 Fab 的片段在体内清除较慢<sup>[38]</sup>, 从而阻碍了它的使用。这也导致通过 $\gamma$ 闪烁成像法在体造影获得足够高的靶与背景比值需时较长, 尤其在临床使用时, 往往静脉注射 12h 以后才能获得较高的靶与背景比值。一般静脉注射给药后 18~24h 内成像, 但有时较小的 MI 需要 48h 的血浆清除才能保证清晰成像。如果只是定性诊断终点, 不用考虑实际梗死面积的话, 那么注射抗体后可以在梗死的部位立即检测到放射活性, 其活性要高于血池活性<sup>[39]</sup>。这个限速过程可以通过使用小分子片断的抗体来克服, 如 sFv<sup>[40]</sup>、CDR<sup>[41]</sup>、模拟肽<sup>[42]</sup>等。但是提高血浆的清除率会使用于靶向的绝对抗体数量降低。因此我们研究开发出了一种新的方法, 可以通过降低背景活性而提高靶与背景的比值, 并且不影响任何时间点的靶向活性。

D

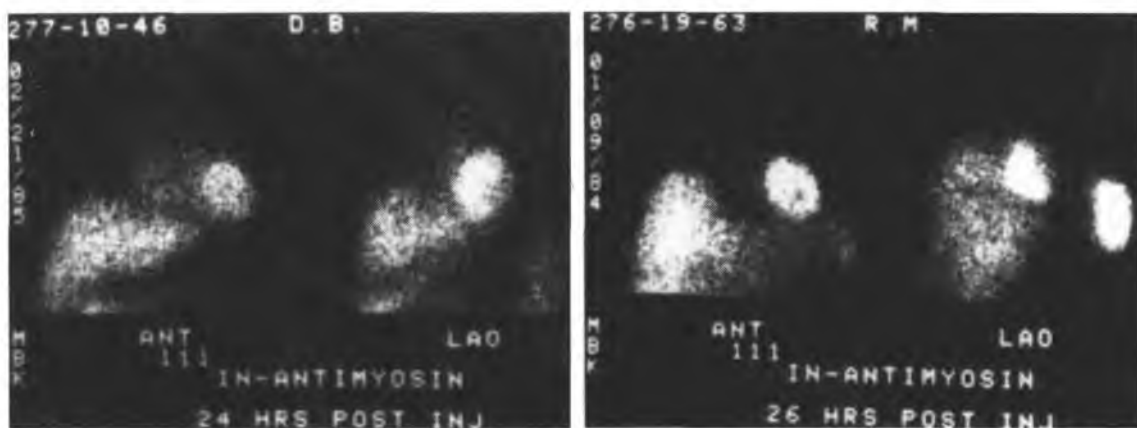


图3 患急性心肌梗死患者在静脉注射用 In-111 标记的抗肌球蛋白抗体 R11D10 Fab 在 24h 和 26h 后的前方和 45°LAO 成像图。第一幅图是患有永久性冠状左前降支堵塞（无灌注）的成像，第二幅是再灌注成功的成像

## 通过负电荷修饰单克隆抗体改进体内靶向给药系统

抗体是碱性糖蛋白，在生理条件下带正电荷<sup>[43]</sup>。而细胞和细胞外基质带负电荷，这是由细胞膜表面的酸性残基，如唾液酸<sup>[44,45]</sup>、磺酸类肝素蛋白多糖<sup>[46]</sup>等造成的。因此带正电荷的分子与带负电荷的细胞表面或细胞外基质之间存在由非特异性的离子间相互作用而产生的电势。这一非特异性相互作用已经被用于运送甲氨蝶呤-聚赖氨酸复合物至坏死细胞<sup>[47]</sup>，由此延缓碱性成纤维细胞生长因子的释放而抢救心肌梗死<sup>[48]</sup>。此外，它还用于通过脂质转染法或阳离子脂质体转运基因结构<sup>[48]</sup>。另外我们曾经设想，如果碱性抗体（带正电荷）能够被修饰而带上一个阴离子型高聚物，那么这个被修饰的抗体的等电点将会降低（例如：PI<5），它与非靶细胞及细胞外基质之间的非特异性离子间相互作用也将会减少<sup>[49]</sup>。然而当经电荷修饰的  $1 \times 10^9$  L/mol 抗体接近它的同种抗原时，其对抗原的亲合力会轻易超过离子间排斥力。由于被电荷修饰的抗体与未被电荷修饰的抗体具有相同的抗原特异性及亲和力，这将使它们具有相同的靶向作用，但这也会造成对非靶组织活性降低，因此应该能够提高靶向组织靶向与背景比值<sup>[49]</sup>。此外由于带负电荷的二乙烯三氨五乙酸螯合物修饰的高分子材料的使用，最终能够制备有高热稳定性的放射性标记的抗体制剂。

抗肌凝蛋白 Fab 与被琥珀酰完全阴离子化的结合多个 DTPA 的聚赖氨酸共价修饰<sup>[50]</sup>。带有大约 3.3kDa 或 17kDa 大小的聚合物且被负电荷修饰的 AM-Fab 与未被修饰的 AM-Fab 有相同的免疫反应性<sup>[50]</sup>。用 In-111 标记这些负电荷修饰的 AM-Fab，其比放射活性可达 50~100mCi/mg。而常规的 AM-Fab 的比放射活性为 2~10mCi/mg。因此，与传统剂量相比，用负电荷修饰的 AM-Fab 运送相同量的放射性物质时所需量更少。在再灌注 MI 实验中给狗静脉注射用负电荷修饰的 AM-Fab，30min 后可见靶向于心肌梗死

部位（图 4），而传统的 In-111 标记的 AM-Fab 需要 1~2h 的抗体循环及清除后才可见靶向现象。

如前所述，由于高靶点与背景比值的快速进展，满足了  $\gamma$  成像的要求（大约 10:1），从而使靶点成像得以提早实现。这也和我们在实验研究中形成的新观点有关，研究人员不再着眼于靶点与背景的放射比值，而是从靶点与背景放射性的绝对差异着手改善成像<sup>[51]</sup>。假定将相同剂量（500 $\mu$ g）的电荷修饰与无电荷修饰的 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体 Fab 注射到实验 MI 的狗体内，5h 后，在梗死组织有  $(0.1718 \pm 0.0201)\% \text{ID/g}$ <sup>[52]</sup> 的负电荷修饰的抗肌凝蛋白抗体 Fab，因为负电荷修饰的抗肌凝蛋白抗体 Fab 的比放射活性为 100mCi/mg，在 1g 梗死组织中的绝对放射活性为 85.9 $\mu$ Ci。而 500 $\mu$ g 的非电荷修饰抗肌凝蛋白抗体 Fab 的比放射活性为 5mCi/mg，在梗死心肌中的含量为  $(0.2041 \pm 0.0204)\% \text{ID/g}$ ，绝对放射活性仅有 5 $\mu$ Ci/g。由于正常的心肌仅有  $(0.0056 \pm 0.0004)\% \text{ID/g}$  的电荷修饰抗肌凝蛋白抗体 Fab 及  $(0.0263 \pm 0.0037)\% \text{ID/g}$  的非电荷修饰抗肌凝蛋白抗体 Fab，绝对背景放射活性分别为 2.8 和 0.658 $\mu$ Ci，因此对于电荷修饰抗肌凝蛋白抗体 Fab 的靶点与背景放射活性相差 83.1 $\mu$ Ci，比值为 30.7:1。而非电荷修饰抗肌凝蛋白抗体 Fab 的靶点与背景放射活性仅相差 4.34 $\mu$ Ci，其比值为 7.6:1。因此，如果靶点与背景相差 83 $\mu$ Ci 时，则靶点能较早地被观察到，而差异为 4.34 $\mu$ Ci 时，则靶点不容易被较早观察到。

为了判断成像提早是由梗死部位辐射活性的增加还是非靶组织辐射活性的减少所引起的，需要对一些生物分布的数据进行比较。图 5 表明即使是在正常心肌结构中（非靶组织），3.3kDa 或 17kDa 的负电荷修饰聚合物-AM-Fab 的放射性明显低于常规标记的 AM-Fab ( $p < 0.001$ )<sup>[50]</sup>。负电荷修饰作用在家兔模型中得到进一步的肯定，血管内给药 3h 后，体内成像可观察到 216mg 的小梗死组织（图 6）<sup>[52]</sup>。目前对这种动物的注射剂量达 1.73% ID/g 时，相当于靶点含量为 86.3 $\mu$ Ci/g。7 只家兔最大靶点与非靶组织平均比值为  $53.9 \pm 18.4$ <sup>[52]</sup>。

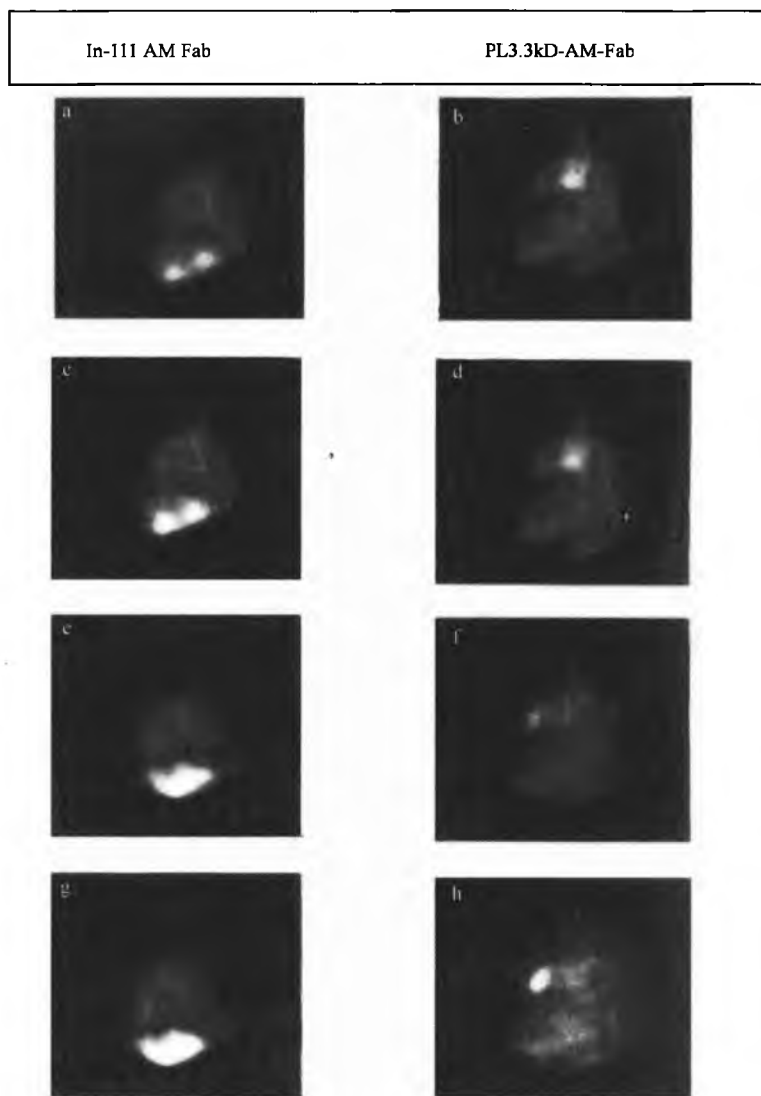


图4 对患有急性心肌梗死的两只狗分别注射 AM-Fab 得到的左侧  $\gamma$  成像图。右边四幅图为负电荷修饰 In-111 标记的 AM-Fab, 左边为常规 In-111 标记的 AM-Fab, a 和 b 是静脉注射后 30min 的成像图, c 和 d 是注射后 1h, e 和 f 是注射后 2h, g 和 h 是注射后 3h

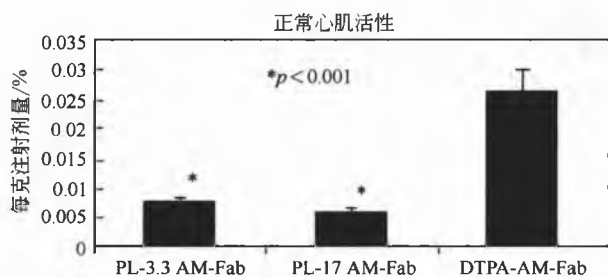


图5 聚合物修饰 AM-Fab 与常规标记的 AM-Fab 的正常心肌活性

因此对 AM-Fab 作负电荷修饰, 不仅可以减弱非靶组织的辐射活性而不影响靶点的辐射活性, 而且提高了比放

射活性, 从而减少了体内给药的蛋白质类化合物的使用量。此外当获得高靶点活性时, 成像提早是基于靶点与背景的活性差异, 而并非由于改善靶点与背景的比值造成的。至于这一负电荷修饰方法能否用于临床并不是由科学可行性决定的, 更多的要出于商业上的考虑。然而对鼠-人嵌合抗体进行负电荷修饰和 In-111 标记, 这种抗体对动脉粥样硬化的多层平滑肌细胞有特异性, 迄今为止发现在研究的 9 名患者体内, 抗体均定位于颈动脉的粥样硬化区域中<sup>[53]</sup>。

抗肌凝蛋白抗体对于由急性心肌梗死造成的心肌坏死的诊断有高度的特异性和敏感性。尽管它需要大约 24h 才能获得明确的诊断性显像, 但它对不明确的心肌梗死、心肌坏死伴不稳定的狭心症、右心室梗死<sup>[54]</sup>及架桥手术期间出现的心肌梗死的诊断均十分有用<sup>[55]</sup>。

D



图6 家兔注射经 In-111 标记的 216mg 负电荷修饰抗肌凝蛋白抗体后的左侧  $\gamma$  成像图, 箭头所示的是体内 216mg 小块心肌梗死组织<sup>[52]</sup>

## 抗肌凝蛋白成像用于各种心肌症的诊断

### 1. 心肌炎

心肌炎是一种临床表现多样的心肌症, 可伴有多种严

重症状, 并导致心肌肥大和心力衰竭<sup>[56]</sup>。一般认为是病毒引起的, 但是从病因学长期角度来考虑, 应是由机体自身免疫引起的。为统一该类疾病的诊断, 起草了达拉斯标准<sup>[57]</sup>。该标准规定心肌炎的确诊以心内膜心肌活体组织检查中的单核细胞浸润和肌坏死为准。但是这个标准局限于心肌炎发病初期。除了标准中的炎性固定组分, 肌坏死引导我们提出抗肌凝蛋白抗体免疫闪烁成像法应该可以靶向于肌坏死组分, 并为心肌炎的非侵入诊断提供灵敏的诊断指标。在对 28 名有心肌炎病史和临床表现指示有心肌炎的患者初始研究中, 抗肌凝蛋白抗体免疫闪烁成像法显示 17 名患者表现阳性 (61%) (图 7, 左侧), 11 名为阴性 (39%) (图 7, 右侧)<sup>[26]</sup>。所有抗肌凝蛋白抗体阴性的患者经心内膜心肌活体组织切片检查也是阴性的, 所有抗肌凝蛋白抗体阳性的患者经心内膜心肌活体组织切片检查也是阳性的<sup>[26]</sup>。In-111 标记的抗肌凝蛋白 Fab 用于诊断急性心肌炎时, 有可能把残留血池放射活性误以为心肌梗死摄取所致。因为心肌炎引发的肌坏死呈扩散状, 不如在急性心肌梗死中集中, In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体的摄取也会扩散并且造成对比性下降。因此成像模糊时推荐使用单光子发射 DSA 体层摄影数字减影血管造影技术。DSA 体层摄影数字减影血管造影技术在横断面上重新造影。矢状和冠状的图像显示的是心肌梗死的活性而不是血池的活性。

### 2. 扩张性心脏病

临床认为活跃期的心肌炎能够导致心力衰竭和急性扩张性心脏病。活跃期心肌炎或正发作炎症最终导致特性心肌症案例的确切数目并不清楚。Dec 和他的同事<sup>[28]</sup>研究了 74 名注射用 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体的患扩张性心肌症的患者 (50 名男性和 24 名女性), 总体射血分数均小于

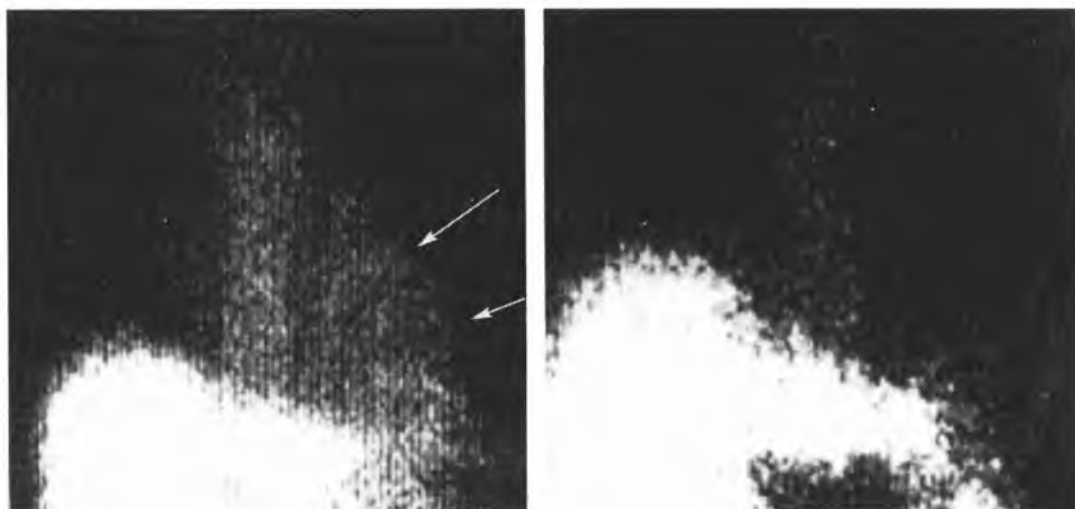


图7 疑患心肌炎的两名患者的 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体  $\gamma$  成像图。左图: 阳性; 右图: 阴性。箭头指示的是心肌活性

0.45。通过成像标准判断 39 个患者 (占 53%) 为阳性。在 39 人中, 有 11 人组织学检查验证为心肌炎, 而另 28 人在活组织检查中显示无心肌炎。其余 35 个抗肌凝蛋白抗体成像正常的患者, 33 个在心内膜心肌活检中呈阴性, 2 个则为假阴性, 在活检中显示患心肌炎。因此, 抗肌凝蛋白抗体成像的诊断敏感性为 85%, 而正常方法扫描的预测值为 94%。但是使用达拉斯标准作为标准, 其诊断特异性只有 54%。这种低特异性可能是由达拉斯标准的极低诊断敏感性造成的, 而且心肌炎可能在左心室或者右心室或者两个心室都发病, 而心内膜心肌组织活检组织切片主要来源于右心室, 尽管用于心肌炎诊断的抗肌凝蛋白抗体造影的特异性较低, 有抗肌凝蛋白抗体扫描和活组织检查不正常的患者, 在随后 6 个月检查

中平均射血分数有明显的改善, 从  $0.27 \pm 0.02$  增长到  $0.43 \pm 0.04$ 。而扫描结果正常且活组织检查阴性的患者, 射血分数从  $0.19 \pm 0.02$  到  $0.24 \pm 0.03$ , 只有轻微改善。进一步来说, 那些抗肌凝蛋白抗体扫描呈阳性而活组织检查呈阴性的患者在随后检查中发现射血分数有明显改善。而心脏功能的自发改善是识别活跃期心肌炎的特征, 那么那些抗肌凝蛋白抗体扫描呈阳性同时心脏功能自发改善的患者患有心肌炎, 而活组织检查无法检测。阴性的抗肌凝蛋白抗体影像也可用于判断治疗的有效性。图 8 显示起初抗肌凝蛋白抗体影像显示阳性, 但经过 6 个月的甾体激素治疗, 对达拉斯标准中的肌坏死成分成像显示阴性。

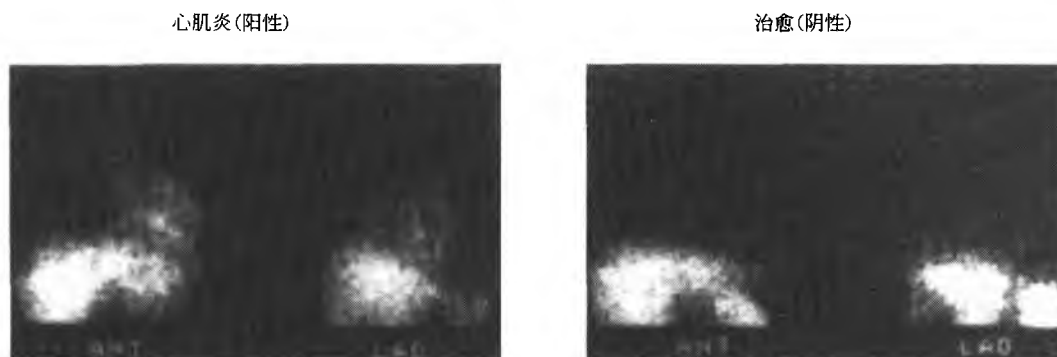


图 8 一个活组织检查心肌炎阳性的患者的前面和左前斜位面的 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体  $\gamma$  成像图。初始左心室射血分数只有 34% (左图), 经过 6 个月的甾体激素治疗 (右图) 左心室射血分数达到正常, 为 55%

### 3. 心脏移植排斥反应

急性心脏移植排斥反应发生后, 心内膜心肌活检中发现心肌坏死, 由此确定需要进行免疫抑制治疗中, 所以抗肌凝蛋白抗体成像也可以直接应用到这种疾病的治疗中。Frist<sup>[58]</sup>等的研究显示抗肌凝蛋白抗体可用于检测与急性排斥反应相关的肌坏死。然而他们同时也注意到在心脏移植后立刻出现了对 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体 Fab 的基底吸收, 这可能是由于心脏移植操作引起心肌受损带来的一系列反应。随后 Ballester 等系统地指出初始细胞的抗肌凝蛋白抗体的活性可以在心脏移植 3 个月后回到基线水平<sup>[59]</sup>。他们同时指出如果心脏移植 1 年后心脏和肺的抗肌凝蛋白抗体活度比仍较高, 那么患者的预后情况会很糟糕, 并且患者可能要再进行再一次的心脏移植。图 9 显示了 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体不同程度的吸收情况, 从正常的抗肌凝蛋白抗体扫描 (a) 到轻度摄取 (b), 到中度摄取 (c), 再到大量地摄取 (d)<sup>[60]</sup>。

抗肌凝蛋白抗体成像对急性心脏移植的排斥反应很

敏感。和心内膜心肌活检的达拉斯标准相比, 抗肌凝蛋白抗体的灵敏度可达 95%<sup>[61]</sup>, 而专属性只有 33%。这种差别可能是由于抗肌凝蛋白抗体的专属性较低和活组织检查对器官移植排斥反应灵敏度较低造成的。然而心内膜心肌活检的抽样误差最有可能解释上述差别, 因此器官移植的排斥反应是一个组织学不调和的过程。因此如果把抗肌凝蛋白抗体作为根本标准的话, 那么心内膜心肌活检的灵敏度和专属性将分别有 31% 和 95%<sup>[61]</sup>。这和心内膜心肌活检在活跃期的心肌梗死中的低诊断效率相一致<sup>[62, 63]</sup>。

### 4. 其他的心肌疾病

根据抗肌凝蛋白抗体的靶向机制, 任何心肌疾病, 只要其疾病进程和心肌不可逆地受损 (心肌细胞膜不再完整), 都可以用抗肌凝蛋白抗体诊断。因此, 抗肌凝蛋白抗体可以用于诊断阿霉素的心脏毒性<sup>[64]</sup>, 风湿性心肌炎<sup>[65]</sup>、莱姆心肌炎<sup>[66]</sup>、Churg-Strauss 疾病<sup>[67]</sup> 和心脏挫伤等疾病引起的心肌损伤<sup>[68]</sup>。

## D

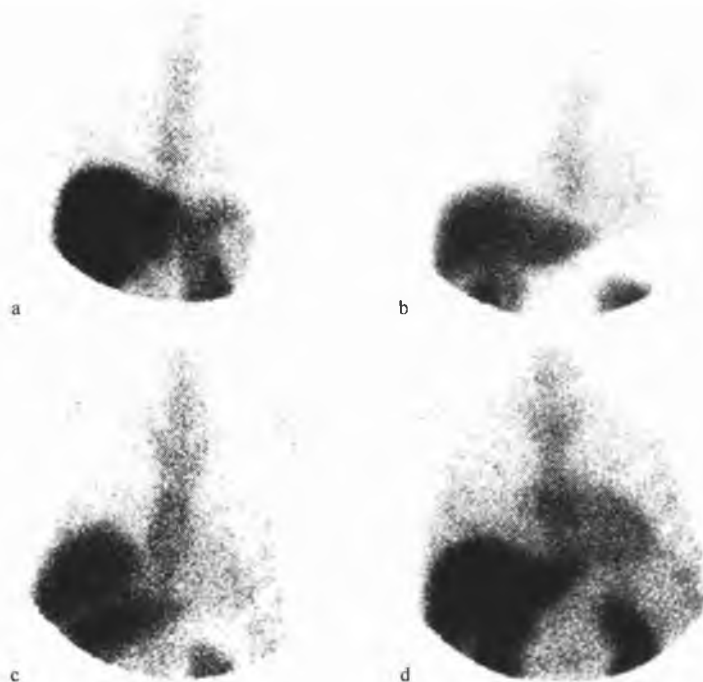


图9 通过 In-111 标记的抗肌凝蛋白抗体成像的不同排斥反应的患者们的  $\gamma$  成像图。

a. 正常扫描; b. 轻度摄取; c. 中度摄取; d. 大量摄取

## 放射性标记的抗体作用于血管病症的靶向

### 1. 血凝块成像

血凝块成像的尝试先于单克隆抗体时代。Spar 等曾经在 20 世纪 60 年代中期用多克隆抗纤维蛋白原抗体检测活体内的血栓<sup>[69]</sup>。由于抗体可以与纤维蛋白原以及纤维蛋白反应, 所以其对成型血凝块的检测的专属性很低。1983 年 Hui 等<sup>[70]</sup>开发了单克隆抗体 59D8 和 64D5, 对纤维蛋白分子的  $\beta$  链具有特异性。该链由纤维蛋白分子  $\beta$  链 N 末端 7 个氨基酸组成。因为纤维蛋白原在凝血酶的作用下构成了新抗原, 新抗原由纤维蛋白  $\beta$  链中的 N 端序列构成, 所以这些单克隆抗体不与纤维蛋白原相互作用。Kudryk 等<sup>[71]</sup>也找到了一个类似的单克隆抗纤维蛋白的抗体 T2G1S, 这种抗体也可以与纤维蛋白  $\beta$  链的 N 端氨基反应。还有很多单克隆抗体, 它们对纤维蛋白具有不同的特异性, 但只有 59D8 和 T2G1S 应用于临床研究。图 10 左图是正常受试者的 24h 下肢成像, 右图是静脉造影证实了的 DVT 患者的影像图。

在实验室和临床中, DVT 成像似乎更加可行。临床中单克隆抗纤维蛋白抗体用于肺部栓塞成像是否成功还不得而知, 但实验室条件下, Kanke 等<sup>[72]</sup>发现 64C5 单克隆抗纤维蛋白抗体可以成像 PE。尽管血凝块大小和总抗纤维蛋白摄取有一定联系, 但是当 PE 小于 50mg 的时候, 其在活

体内将不能实现  $\gamma$  成像。我们仍需要作进一步的研究, 使这种检测 DVT 和 PE 血栓的方法能够应用于临床。

### 2. 放射标记抗体对动脉粥样硬化病变部位的靶向

动脉粥样硬化症是另一种血管内病变, 应该也可以用单克隆抗体进行靶向。最初的看法是在动脉粥样硬化部位没有特殊的化合物可作为靶向目标。病变部位是由巨噬细胞和合成表型的平滑肌细胞组成, 巨噬细胞由于摄取氧化的低密度脂蛋白成为泡沫细胞。一般认为损伤部位无分化抗原, 因此, 一般认为动脉 X 射线摄影法、超声波检查法等常规的诊断方式足够提供损伤血管的信息。这种方法虽然有效, 但不能提供病理生理方面的信息, 也就不能阐明稳定性及发病机理。

对多种阐述动脉粥样硬化部位发病的可能代谢组分的观点一一进行了实验验证。放射性标记的氧化低密度脂蛋白<sup>[73]</sup>以及抗体已经被应用到活化巨噬细胞<sup>[74]</sup>并获得了一些结果。Scotgen 生物制药公司研发了一种单克隆抗体, 这种抗体对动脉粥样硬化部位增生的平滑肌细胞产生的复合抗原具特异性<sup>[75]</sup>。这种指定为 Z2D3 的 IgM 同种抗体<sup>[76]</sup>在家兔模型中可靶向于动脉粥样硬化部位<sup>[77]</sup>。和基因工程中生产鼠-人嵌合 IgG Z2D3 抗体一样, Z2D3 的 IgM 亚型可以转变为 IgG。图 11 (左) 显示了 In-111 标记的嵌合 Z2D3 F(ab')<sub>2</sub> 靶向于家兔的动脉粥样硬化部位的  $\gamma$  成像图。在主

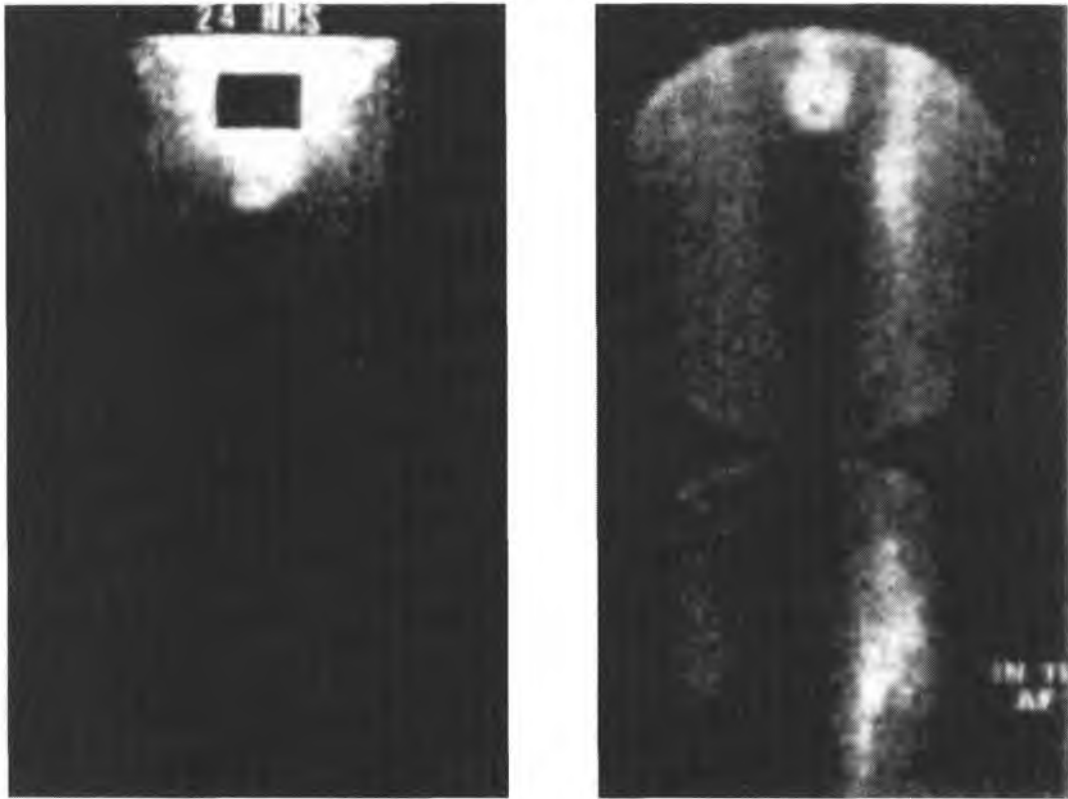


图 10 注射有以  $Tc-99m$  标记的抗纤维蛋白抗体的正常对照 (左) 和 DVT 患者 (右) 的  $\gamma$  成像平面图。  
在左侧大腿和小腿可以看到放射性同位素标记的抗纤维蛋白抗体的吸收<sup>[32]</sup>

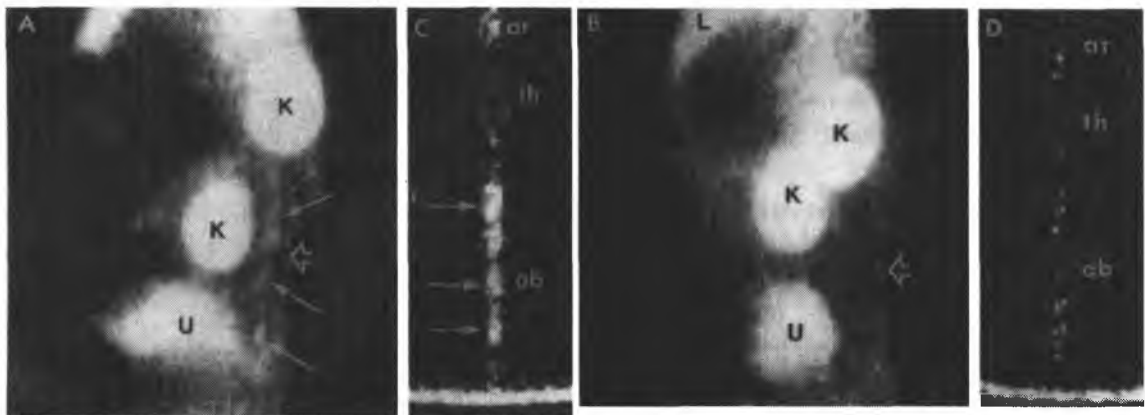


图 11 在主动脉降支部位粥样硬化的家兔体内分别注射  $In-111$  标记的鼠-人嵌合  $Z2D3 F(ab')_2$  (左图) 和  $In-111$  标记的人  $IgG F(ab')_2$  (右图) 后的左斜侧成像图。左图显示的是体内  $\gamma$  成像图 (K 为肾、U 为泌尿膀胱放射性活性, 实心细箭头=动脉粥样硬化, 空心大箭头=脊椎活动), 右图显示的是从主动脉弓到股动脉分支的离体动脉的体外成像图

动脉降支部位观察到的损伤是实验诱导的损伤。这个模式中的损伤主要是由从膈动脉到股动脉分支的大动脉降支的去内皮化诱发的<sup>[76]</sup>。家兔必须喂以含 6% 花生油、2% 高胆固醇食物, 且至少 3 个月。该方案引起的损伤更接近于人类纤维损伤, 不像 Watanabi 高脂血症家兔实验中的脂肪纹损伤。给具类似损伤的家兔注射  $In-111$  标记的电荷修饰的人  $IgG F(ab')_2$  作为对照, 在损伤部位没见到特异靶向 (图 11

右)。从免疫组织学上来看, 抗体存在于平滑肌细胞增殖部位, 而不是在媒介中具收缩显形的平滑肌中<sup>[12]</sup> (图 12)。最后应用负电荷修饰的鼠-人嵌合  $IgG Z2D3 F(ab')_2$  来考察看其是否能够诊断患者颈动脉的动脉粥样硬化<sup>[78]</sup>。比较平面图和 SPECT 成像, 发现用 SPECT 成像检测损伤效果要更好 (图 13)<sup>[79]</sup>。不过, 抗体  $Z2D3$  是否有广阔的临床应用前景还需要进一步的研究。

D

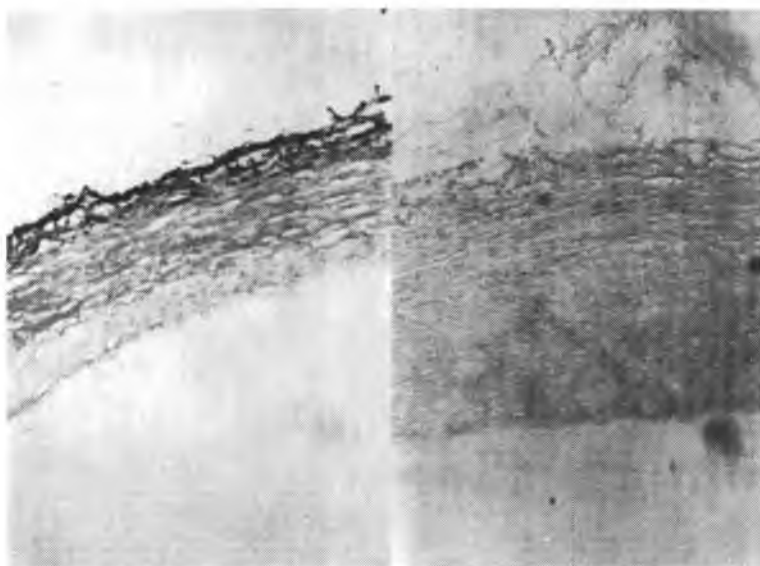
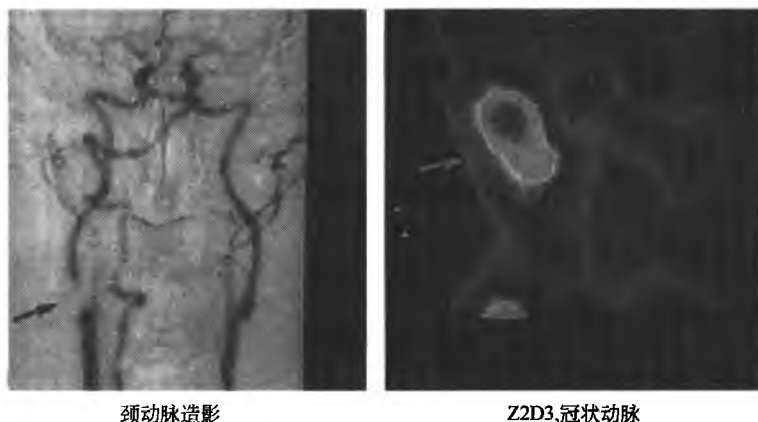


图 12 动脉粥样硬化的家兔的主动脉降支（左图）和正常家兔的主动脉（右图）冰冻切片的免疫过氧化物酶染色图



颈动脉造影

Z2D3,冠状动脉

图 13 右图显示的是颈动脉粥样硬化的患者静脉注射 In-111 标记的负电荷修饰的人鼠嵌合 IgG Z2D3 F(ab')<sub>2</sub> 4h 后的冠状 DSA 体层摄影数字减影血管造影。箭头指示的是颈动脉病变。从血管造影图（左图）中可以看出严重的右颈内动脉病变

## 细胞骨架抗原的特异免疫脂质体对细胞膜病变部位的靶向作用

众所周知，动物界中存有主要的两种细胞死亡方式：胀亡（以前认为是坏死）细胞死亡方式和细胞凋亡的死亡方式。两者的区别是：前者是由外部的非生理学损伤作用于细胞而造成的<sup>[80]</sup>，后者是因为自杀细胞内部损耗或者程序式细胞死亡造成的<sup>[81]</sup>。心脏和大脑等器官在发生局部缺血性损伤的病理情况下，在梗死的中心区域细胞死亡的主要方式是胀亡<sup>[82]</sup>。而在周围和再灌注区域，主要方式为细胞凋亡<sup>[83]</sup>。人们认为急性心肌梗死是由胀亡的细胞死亡所引起的，心肌中细胞膜损伤的恶化构成了此不可逆过程。这些损伤最初表现为心肌损伤的急性期时肌纤维膜出现亚

显微的孔，细胞内的大分子物质通过这些孔流出到细胞外液中。与此同时，一些细胞内蛋白质和细胞骨架的成分，例如肌球蛋白和弹性蛋白，穿过这些孔洞到达周围的细胞间液中。靶向于细胞骨架的标记过的抗体可以用于区分这些受损细胞<sup>[25]</sup>。

因此，我们假设如果这些细胞膜损伤可以在再灌注的时候或之前封闭，那么就可以保护心肌细胞的生存力<sup>[84]</sup>。具备对细胞膜损伤部位靶向识别的脂质体是封闭细胞膜损伤的理想物质。然而，脂质体必须具备对细胞膜损伤特异性识别的靶向位点。为了达到这个目的，需要采用能够特异性识别构成细胞骨架肌丝上肌球蛋白的单克隆抗体。因此抗肌球蛋白的免疫脂质体必须能够在损伤难以修复之前，识别局部缺血损伤形成时暴露于细胞膜间的细胞骨架的肌球蛋白（图 14）。



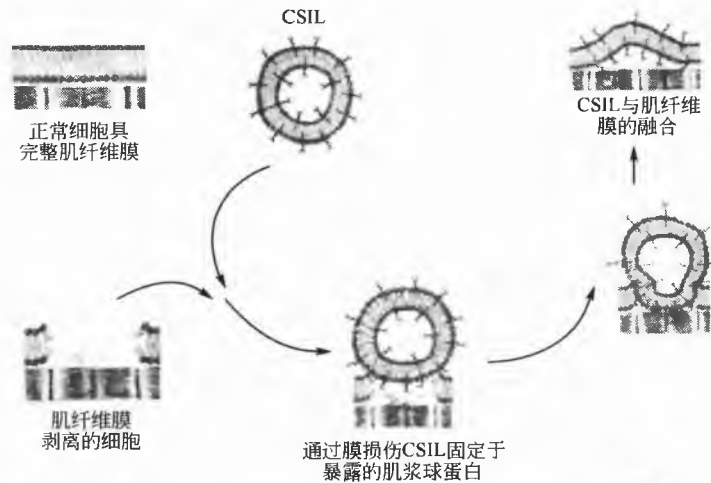


图 14 抗肌凝蛋白抗体的脂质体封闭和救治细胞膜损伤的机理假说图解

### 1. 细胞骨架特异的免疫脂质体对细胞活力的保护

H9C2 大鼠胚胎的心肌细胞的体外培养实验为理论研究提供了证据。将两百万个 H9C2 心肌细胞在 37℃ 含 5% CO<sub>2</sub> 和 10% 胎牛血清的 DEME 中培养，在整夜培养之后，将细胞先在磷酸盐缓冲液中洗涤，然后置于新鲜的介质（有或无不同的脂质体制剂）中培养<sup>[84]</sup>。将氮气不断地通入到介质中，维持 4min 以使所有的细胞（>95%）离开烧瓶的底部。接着密封烧瓶，保持其低氧状态，维持 37℃ 过夜。H9C2 心肌细胞在低氧培育环境下，分别与抗肌凝蛋白免疫脂质体（IL）、普通脂质体（PL）和对照非特异性 IgG 脂质体（IgL）共同培养。不含脂质体的低氧和含氧正常的心肌细胞作为另外的对照。用卵磷脂和胆固醇按 7:3 的摩尔比制备脂质体，然后将抗肌凝蛋白抗体 2G42D7 混入脂质体中，抗体就会被 N-戊二酰磷脂酰基乙醇胺（NGPE）修饰，并且被清洁剂增溶。含荧光若丹明标记的脂质体制剂可用于荧光显微镜和共焦显微镜成像<sup>[84]</sup>。

在低氧阶段末期，使用锥虫蓝染料排除标准评估细胞的生命力。图 15 表明用 IL 处理的低氧细胞的生命力与含氧量正常环境下培养的 H9C2 心肌细胞的生命力没有明显的不同。用 PL 或者 IgG 脂质体处理的心肌细胞的生命力明显地低于免疫脂质体处理的低氧或者含氧量正常的细胞。因为用 PL 或者 IgG 脂质体处理的心肌细胞的生命力没有差别，那么随后的实验只使用 PL 处理作为对照。用 IL 处理的细胞生命力得以保护的现象通过<sup>3</sup>H-脱氧胸腺嘧啶摄取研究得到了进一步认定<sup>[84]</sup>。通过<sup>3</sup>H-脱氧胸腺嘧啶摄取，反映了用 IL 处理的低氧和含氧量正常的细胞的 DNA 复制是一样的。然而，用 PL 处理的细胞复制只有含氧量正常或用 IL 处理的低氧细胞的 10%。没有经过任何处理的低氧细胞不显示<sup>3</sup>H-脱氧胸

腺嘧啶摄取，这表明了它是缺乏生命力的细胞（图 16）。

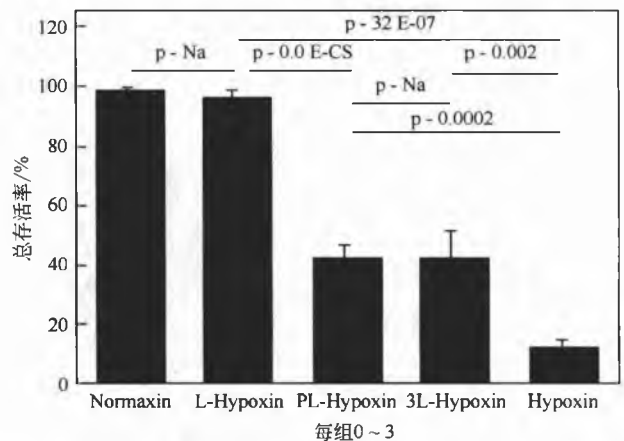


图 15 通过锥虫蓝染料摄取标准比较不同环境培养的 H9C2 心肌细胞的生命力。用 IL 处理的低氧环境下细胞的生命力与用 PL 或者 IgG 脂质体处理的心肌细胞的生命力的比较。阳性对照是含氧量正常的细胞，阴性对照是不经任何处理的低氧细胞<sup>[84]</sup>

通过若丹明标记的抗肌凝蛋白免疫脂质体（IL），可以用荧光显微镜观察到其在缺氧心肌细胞的作用靶点。如图 17 所示，只有用抗肌凝蛋白-若丹明标记的免疫脂质体（IL）处理的细胞仍旧融合在培养液中，并且几乎所有细胞都被荧光脂质体标记。经若丹明标记的普通脂质体处理的那些细胞经过 24h 的保温培养后，只有极少数的细胞黏附在培养基板上，基本上没有或很少有荧光。共焦显微镜检测发现在经若丹明标记的免疫脂质体（IL）处理的培养基中，细胞仍旧保持它们的形态和形状，散乱的荧光脂质体黏附在细胞膜上（图 18，左图）。经若丹明标记的普通脂质体处理的细胞萎缩，并且只有一些凌乱的细胞显示了对荧光普通脂质体的非特异性黏

D

附(图 18, 右图)。在这个研究中, 未经处理的低氧细胞都死亡了, 而且因为没有将荧光物质加入培养基中, 所以没有得到显微图像。

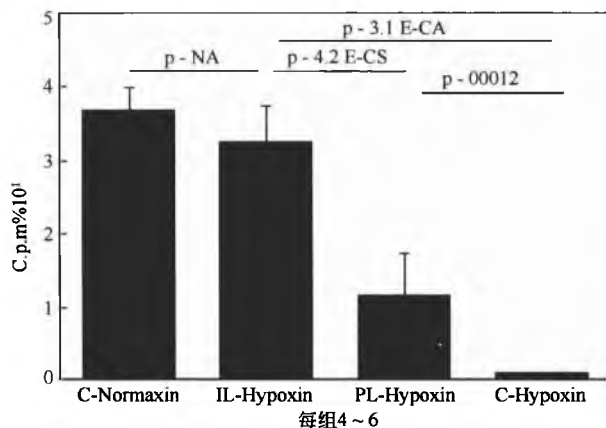


图 16 通过<sup>3</sup>H-脱氧胸腺嘧啶摄取标准比较不同环境培养的 H9C2 心肌细胞的生命力。用 IL 处理的低氧 (24h) 细胞的生命力与正常细胞 ( $p=NS$ )、PL 处理的缺氧细胞 ( $p<0.01$ ) 和未处理的缺氧细胞 ( $p<0.01$ ) 的比较<sup>[84]</sup>



图 17 荧光若丹明标记的 IL (上) 或荧光若丹明标记的 PL (下) 处理过的低氧 H9C2 心肌细胞的 24h 荧光显微图。以 IL 处理的细胞都存活, 它们都附着若丹明荧光, 显示 IL 与细胞连接

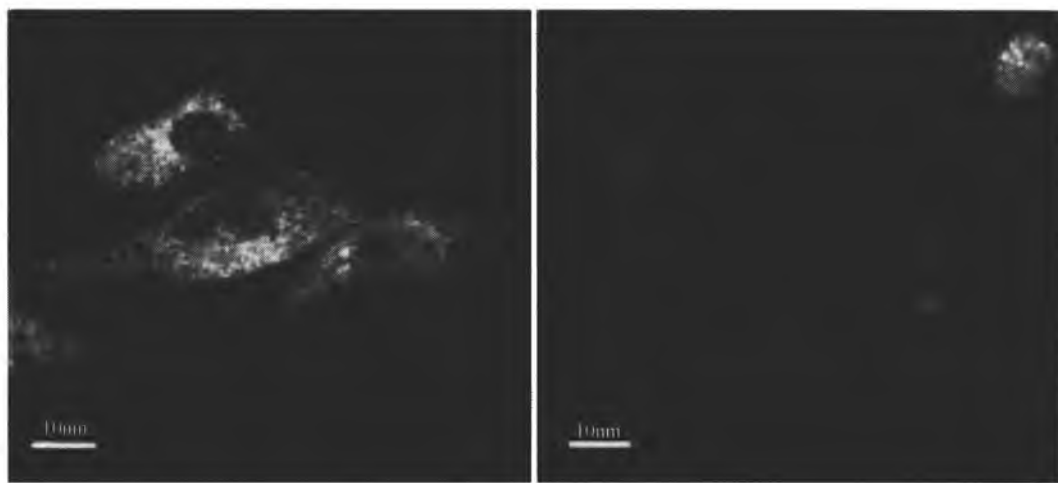


图 18 若丹明标记的免疫脂质体 (IL) (左) 或若丹明标记的普通脂质体 (PL) (右) 处理过的缺氧心肌细胞 24h 后共焦显微图。经若丹明标记的免疫脂质体处理的细胞显示保持了完整细胞膜以及细胞形态 (左图)。经若丹明标记的普通脂质体处理的细胞都为死细胞, 只有很少一部分细胞与普通脂质体呈非特异性结合

这种有效的保护作用能持续多久也是非常重要的。因此, 有人进行了一项研究以确定抗肌凝蛋白免疫脂质体 (IL) 是否能够保护在缺氧条件下培养的严重损伤的心肌细胞 1~5 天<sup>[87]</sup>。试验的设计如上所述, 但细胞在缺氧的条件下保存不同的时间。用<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶脱氧核苷 (<sup>3</sup>H-T) 摄取率评价细胞生命力。未经处理的低氧心肌细胞 (HC)、含氧量正常的心肌细胞 (NC) 和经普通脂质体处理的心肌细胞作为对照。经过 24h 的细胞培养

后, 正常的心肌细胞 (NC) 的存活率从 100% 增加到约 250% (对照 NC 的平均<sup>3</sup>H-T 摄取率设定为 100%), 主要是细胞复制, 而实际上低氧条件下心肌细胞不能存活 24h。在缺氧心肌细胞中加入普通脂质体能起到一定的保护作用, 这样的心肌细胞在培养 24h 后细胞的生命力是 78%, 在低氧 2 天后这个数字降为 4%, 3 天后变为小于 1%。然而用免疫脂质体 (IL) 处理的低氧细胞, 不仅能保护细胞, 还允许细胞复制。这可以从经免疫脂

质体 (IL) 处理的低氧细胞的<sup>3</sup>H-T 摄取率 (24h) (225%) 与含氧量正常的心肌细胞的<sup>3</sup>H-T 摄取率 (24h) (250%) 具有相似增长性中得到佐证。这些数字表明, 免疫脂质体 (IL) 对低氧细胞的保护作用可以使心肌细胞的生命力得到长期的保持, 这可能适合于器官移植时细胞生命力的保持。

## 2. CSIL 降低栓塞尺寸的体内预试验

在预试验中, 我们用心肌栓塞的家兔作模型, 分别给予抗肌凝蛋白免疫脂质体 (IL), IgG-L, PL 或者安慰剂生理盐水。同时, 闭塞冠状动脉回旋支, 45min 后重新灌注。

6h 后, 测定栓塞的大小, IL 处理的家兔心脏栓塞的大小大约是对照 PL、IgG-L, 或者生理盐水安慰剂处理的 5%~10%<sup>[88]</sup>。图 19 显示了用硝基蓝四唑染色的家兔心脏部分图, 四幅图分别为经 IL (左上)、PL (右上)、IgG-L (左下) 和生理盐水安慰剂 (右下) 处理的结果。在硝基蓝四唑染色中, 正常心肌细胞显示紫色和暗棕色, 而栓塞心肌细胞则显示浅色。静脉内给予 IL 和心房内直接给予此脂质体相比是否有效, 现在仍不得而知。在急性心肌梗死治疗中, 血管成形术依然是溶栓再灌注治疗的替代方法。与血管成形术一起, 在血管成形时直接把 IL 输送到栓塞区域或许是可行的。

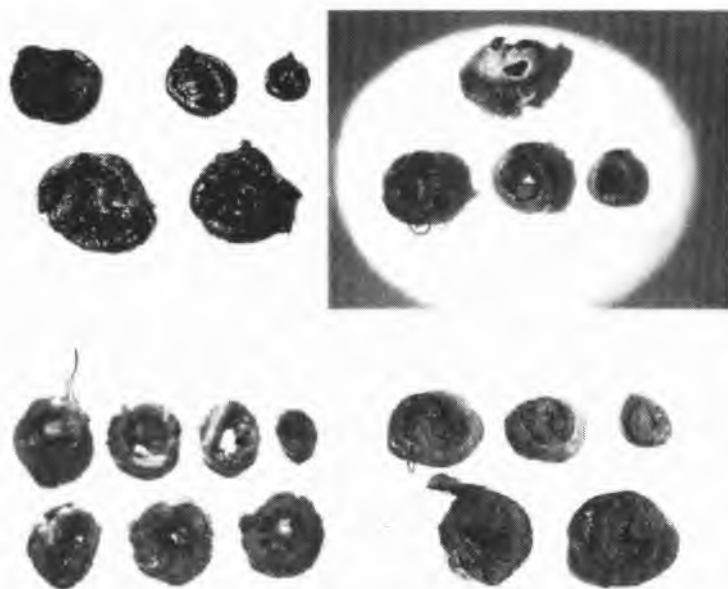


图 19 以 PL (右上图)、生理盐水安慰剂 (右下图)、IL (左上图) 等处理患急性心肌梗死的家兔。图显示了心脏部分硝基蓝四唑染色。由于丝线结扎, 右上图和右下图可见左回旋支冠状动脉闭塞

## 3. 细胞骨架特异性免疫脂质体和缺氧细胞的融合

为证明细胞生命力的保持与 IL 和细胞膜的融合有关, 研究人员制备了含有银颗粒的免疫脂质体 IL。原理为银颗粒能进入处理的缺氧心肌细胞的唯一途径是 IL 与细胞膜的融合, 这种融合可以保存心肌细胞的生命力。如果 IL 内化过程是细胞内吞而不是融合, 那么普通脂质体也应该显示银颗粒的内化。制备这种脂质体时<sup>[84]</sup>, 研究人员在超声制备脂质体的缓冲溶液中加入硝酸银, 将通过在硝酸银溶液中透析纯化得到的脂质体在 0.12mol/L NaCl 溶液中透析, 然后光照 1h, 最终在脂质体内形成有高电子密度的氧化银沉淀。

图 20 表明只经含有银颗粒浸润的抗肌凝蛋白 IL 处理

的细胞能保持细胞形态, 并且有银颗粒的内化 (图 20, 上图)。而经含银颗粒浸润的普通脂质体处理的心肌细胞没有存活。然而对确认存活的细胞进行大量的研究后, 在细胞外观察到了银颗粒的存在 (图 20, 下图)<sup>[89]</sup>。图 20 上图每簇银颗粒的大小与先前制备的脂质体粒径大小一致, 大约为 200~300 $\mu$ m。从这个研究中, 我们不可能确定银颗粒是否迁移进了细胞核。银颗粒一旦被内化, 可能不会像可溶性药物或基因序列那样移动。而且由于用普通脂质体处理没有观察到银颗粒的内化, 所以免疫脂质体 (IL) 银颗粒的内化机制不应该是内吞或胞饮。因此免疫脂质体 (IL) 输送的银颗粒的内化符合原来的设想, 即细胞骨架特异性免疫脂质体能与缺氧细胞的细胞膜融合, 从而将脂质体内的物质释放到细胞质中。

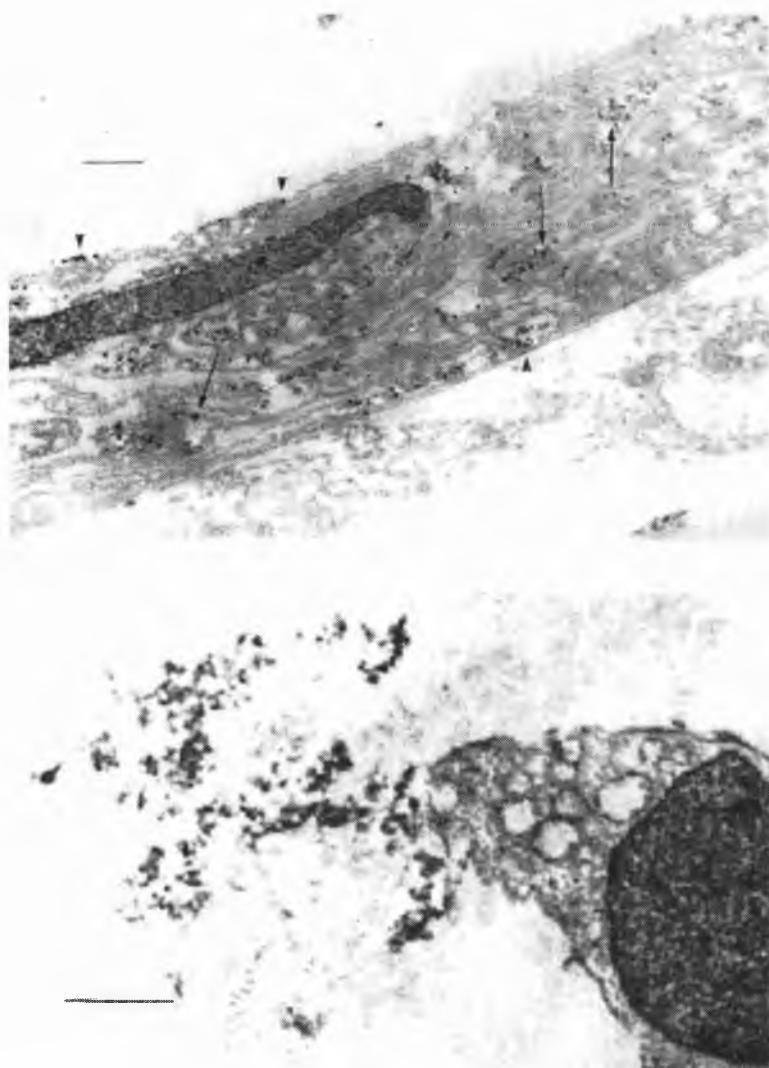


图 20 缺氧 H9C2 心肌细胞在经含有银颗粒的 IL 或 PL 处理后的传输电子显微镜图。  
经 IL 处理后的细胞内可见银颗粒，箭头所示为 1 $\mu$ m。

#### 4. 胞浆内 DNA 运输

因为抗肌凝蛋白免疫脂质体可用于封闭细胞膜损伤<sup>[84]</sup>，脂质体内的银颗粒可以直接运入细胞质<sup>[88]</sup>，我们假设如果用基因片段代替银颗粒，那么基因也应可以直接运入细胞质<sup>[90]</sup>。基因绕过内吞途径，而直接运送到细胞质，可能提高基因表达的效率。为证实这个假说，我们分别先后采用了抗肌凝蛋白 sFc 载体<sup>[90]</sup>、pGL2 荧光素酶载体<sup>[91]</sup>和细菌  $\beta$ -半乳糖苷酶载体<sup>[92]</sup>。使用三种不同载体旨在表明不论载体的起源如何（三种分别为老鼠、昆虫和细菌），都可以转染心肌细胞并有效地表达基因。这些体外研究表明，载体直接运到细胞质可以很高的效率表达。与标准阳离子脂质体的对照实验表明，由于每个细胞负荷 40000 个脂质体<sup>[93]</sup>，细胞膜过度负荷，虽然阳离子脂质体的转染效率很

高，但转染细胞的生命力急剧下降。而且，由于载体的内化要经过内含体，溶酶体活性造成载体数量降低可能是表达基因产品细胞数目降低的原因。

当 IL 用于细菌  $\beta$ -半乳糖苷酶载体转染入缺氧细胞时，用 X-gal 彩色显影剂染色显示细菌  $\beta$ -半乳糖苷酶活性。虽然用 IL 转染的单个细胞显示出的  $\beta$ -半乳糖苷酶活性比经阳离子脂质体转染后的活性弱，但显示基因表达的细胞总数至少是后者的 40 倍<sup>[94]</sup>。这个结果与我们的计算相一致，IL 转染只能运往每个细胞 3~4 个载体的拷贝，而使用阳离子脂质体转染时，每个细胞可达到超过 3000 个载体的拷贝<sup>[94]</sup>。图 21 显示以  $\beta$ -半乳糖苷酶为载体 IL (a)、阳离子脂质体 (b) 和 IgG 脂质体转染 (c) 的成功表达的显微照片的比较，用 PL 和 IgG-L 处理的细胞一样显示没有转染。



图 21 在缺氧细胞中利用 IL、阳离子脂质体或 IgG 脂质体成功地转染以细菌  $\beta$ -半乳糖苷酶为载体的基因。 $\beta$ -半乳糖苷酶活性在 pH 7.0 时被 X-gal 激活。经 IL- $\beta$ -半乳糖苷酶载体处理的细胞显示蓝色，且培养基是融合性的。只有两个经阳离子脂质体  $\beta$ -半乳糖苷酶载体处理的细胞显示基因表达，而且细胞也没有融合，显示细胞损耗。经 IgG 脂质体处理的细胞也不表达  $\beta$ -半乳糖苷酶

虽然现在新的基因转染方法会伤害细胞膜，但我们对细胞生命力的研究表明几乎没有细胞因为这种处理方式而死亡。因此由于免疫脂质体处理方法在体外细胞转染和基因表达中的高效性，该方法是非常理想的。这种方法是否在体内也同样有效，有必要作进一步研究。

## 结论

单克隆抗体是靶向药物给药系统的一部分。抗体提供最方便易得和最通用的靶向试剂，靶向的药物可以是用于治疗或诊断的放射性同位素，也可以是化疗药物如阿霉素等。药物可以像免疫交联物一样直接附于抗体表面，也可以包埋于脂质体内部作为免疫脂质体靶向。虽然本文着重展示抗体在心血管系统中的靶向给药系统的功能，但是抗体的靶向功能绝非仅限于心血管系统。抗体在心血管系统方面的成像和治疗方面的应用同样适应于其他器官系统。本文粗略地讨论了单克隆抗体在肿瘤方面的应用。虽然本文未介绍抗体在神经和其他系统的靶向药物传递方面的潜在应用，但其适用性是不容忽视的。不过这将是另一篇文章的主题。因此这篇文章只涉及单克隆抗体在心血管方面的靶向给药。

## 参考文献

1. Ehrlich, P.; Herter, C. A. Ueber Einige Verwendungen der Naphtochinonsulfosaure. *Z. Physiol. Chem.* 1904, 61; 379—392.
2. Pressman, D.; Keighley, G. Zone of Activity of Antibodies as Determined by the Use of Radioactive Tracers: Zone of Activity of Nephrotoxic Antikidney Serum. *J. Immunol.* 1948, 59; 141—146.
3. Kohler, G.; Milstein, C. Continuous Cultures of Fused

Cells Secreting Antibodies of Predefined Specificity. *Nature*; (London) 1975, 256; 495—497.

4. Mach, J.-P.; Carrel, S.; Forni, M.; Ritschard, J.; Donath, A.; Alberto, P. Tumor Localization of Radiolabeled Antibodies Against Carcinoembryonic Antigen in Patients with Carcinoma. *New Eng. J. Med.* 1980, 303; 5—10.
5. Goldenberg, D. M.; DeLand, F. H.; Kim, E. E.; Primus, F. J.; van Nagell, J. R., Jr.; Estes, N.; DeSimone, P.; Rayburn, P. Use of Radiolabeled Antibodies to Carcinoembryonic Antigen for the Detection and Localization of Diverse Cancers by External Photoscanning. *New Engl. J. Med.* 1978, 298; 1384—1388.
6. Mach, J. P.; Buchegger, F.; Forni, M. Use of Radiolabeled Monoclonal Anti-CEA Antibodies for the Detection of Human Carcinomas by External Photoscanning and Tomoscintigraphy. *Immunol. Today* 1981, 2; 239—247.
7. Bischof-Delaloye, A.; Delaloye, B.; Buchegger, F. Clinical Value of Immunoscintigraphy in Colorectal Carcinoma Patients: A Prospective Study. *J. Nucl. Med.* 1989, 30; 1646—1656.
8. Rainsbury, R. M.; Westwood, J. H.; Coombes, R. C. Localization of Metastatic Breast Carcinoma by Monoclonal Antibody Chelate Labeled with In-111. *Lancet* 1983, 1; 934—938.
9. Chatal, J. F.; Saccavini, J. C.; Fumoleau, P. Immunoscintigraphy of Colon Carcinoma. *J. Nucl. Med.* 1984, 25; 307—314.
10. Kramer, E. L.; Noz, M. E.; Liebes, L.; Murthy, S.; Tiu, S.; Goldenberg, D. M. Radioimmuno-detection of Non-Small Cell Lung Cancer Using Technetium-99m

- Anticarcinoembryonic Antigen IMMU-4 Fab' Fragment. Preliminary Results. *Cancer* 1994, 73 (3 Suppl); 890—895.
11. Epenetos, A. A.; Sheperd, J.; Britton, K. E. I-123 Radioiodinated Antibody Imaging of Occult Ovarian Cancer. *Cancer* 1985, 55; 984—987.
12. Babaian, R. J.; Lamki, L. M. Radioimmunoscinigraphy of Prostate Carcinoma. *Semin. Nucl. Med.* 1989, 19; 309—321.
13. Larson, S. M.; Carrasquillo, J. A.; Krohn, K. A. Diagnostic Imaging of Malignant Melanoma with Radio-labeled Antitumor Antibodies. *JAMA* 1983, 249; 811—812.
14. Carasquillo, J. A.; Mulshine, J. L.; Bunn, B. A. Tumor Imaging of In-111 T101 Monoclonal Antibody is Superior to Iodine-131 T101 in Cutaneous T-Cell Lym-phoma. *J. Nucl. Med.* 1987, 28; 281—287.
15. Mariani, G.; Molea, N.; Bacciardi, D.; Boggi, U.; Fornaciari, G.; Campani, D.; Salvadori, P. A.; Giulianotti, P. C.; Mosca, F.; Gold, D. V. Initial Tumor Targeting, Biodistribution, and Pharmacokinetic Evaluation of the Monoclonal Antibody PAM4 in Patients with Pancreatic Cancer. *Cancer. Res.* 1995, 55 (23 Suppl); 5911s—5915s.
16. Peltier, P.; Curtet, C.; Chatal, J. -F. Radioimmuno-detection of Medullary Thyroid Cancer Using a Bispecific Anti-CEA/Anti-insium-DTPA Antibody and an Indium-111 Labeled DTPA-Dimer. *J. Nucl. Med.* 1993, 34; 1267—1273.
17. Pimm, M. V.; Fells, H. F.; Perkins, A. C.; Baldwin, R. W. Iodine-131 and Indium-111 Labelled Avidin and Streptavidin for Pre-Targetted Immunoscintigraphy with Biotinylated Anti-Tumour Monoclonal Antibody. *Nucl. Med. Commun.* 1988, 9 (11); 931—941.
18. Brenner, T. L.; Adams, V. R. First Mab Approved for Treatment of Metastatic Breast Cancer. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1999, 39; 236—238.
19. McLaughlin, P. Clinical Status and Optimal Use of Rituximab for B-Cell Lymphomas. *Oncology* 1998, 12; 1763—1777.
20. Nielsen, U. B.; Marks, J. S. Internalizing Antibodies and Targeted Cancer Therapy; Direct Selection from Phage Display Libraries. *Pharm. Sci. Technol. Today* 2000, 3 (8); 282—291.
21. Mahe, M. A.; Fumoleau, P.; Fabbro, M. A Phase II Study of Intraperitoneal Radioimmunotherapy with Iodine-131-labeled Monoclonal Antibody OC-125 in Pa-tients with Residual Ovarian Carcinoma. *Clin. Cancer. Res.* 1999, 5 (S10); 3249s—3253s.
22. Winkler, U.; Barth, S.; Schnell, R.; Diehl, V.; Engert, A. The Emerging Role of Immunotoxins in Leu-kemia and Lymphoma. *Ann. Oncol.* 1997, 8 (Suppl 1); 139—146.
23. Trail, P. A. Cure of Xenografted Human Carcinoma by BR96-doxorubicin Immunoconjugates. *Science* 1993, 261; 212—215.
24. Bernstein, N. Antibody-directed Targeting of Liposomes to Human Cell Lines; Role of Binding and Internaliza-tion on Growth Inhibition. *Cancer Res.* 1987, 47; 5954—5959.
25. Khaw, B. A.; Beller, G. A.; Haber, E.; Smith, T. W. Localization of Cardiac Myosin-Specific Antibody in Myocardial Infarction. *J. Clin. Invest.* 1976, 58; 439—446.
26. Yasuda, T.; Palacios, I. F.; Dec, G. W.; Fallon, J. T.; Gold, H. K.; Leinbach, R. C.; Strauss, H. W.; Khaw, B. A.; Haber, E. Indium-111 Mono-clonal Antimyosin Antibody Imaging in the Diagnosis of Acute Myocarditis. *Circulation* 1987, 76; 306—311.
27. Ballester, M.; Carrio, I.; Abada, M. L. Patterns of Evolution of Myocyte Damage After Human Heart Transplant Detected by 111 In Monoclonal Antimyosin. *Am. J. Cardiol.* 1988, 62; 623—627.
28. Dec, G. W.; Palacios, I.; Yasuda, T.; Fallon, J. T.; Khaw, B. A.; Strauss, H. W.; Haber, E. Antimyosin Antibody Cardiac Imaging; Its Role in the Diagnosis of Myocarditis. *J. Am. Col. Cardiol.* 1990, 16 (1); 97—104.
29. Ballester, M.; Martí, V.; Carriò, I. Spectrum of Alcohol-Induced Myocardial Damage Detected by Indium-111-Labeled Monoclonal Antimyosin Antibodies. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997, 29 (1); 160—167.
30. Estorch, M.; Carrio, I.; Berna, L. 111 In-Antimyosin Scintigraphy After Doxorubicin Therapy in Patients with Advanced Breast Cancer. *J. Nucl. Med.* 1990, 31; 1965—1969.
31. Narula, J.; Khaw, B. A.; Southern, J. Monoclonal Antibodies in Cardiovascular Diseases. Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W., Eds.; Lea & Febiger; Philadelphia, 1994; 118—126.
32. Knight, L. C. Antifibrin Antibody for Detection of Deep Vein Thrombosis. *Monoclonal Antibodies in Cardiovas-cular Diseases*; Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W., Eds.; Lea & Febiger; Philadelphia, 1994; 171—186.
33. Narula, J.; Ditlow, C.; Chen, F.; Khaw, B. A. Monoclonal Antibodies for Detection of Atherosclerotic Lesions. *Monoclonal Antibodies in Cardiovascular Disea-ses*; Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W.,

- Eds.; Lea & Febiger; Philadelphia, 1994; 206—215.
34. Kairemo, K. J.; Wiklund, T. A.; Liewendahl, K. Imaging of Soft-tissue Sarcomas with In-111-Labeled Monoclonal Antimyosin Fab Fragments. *J. Nucl. Med.* 1990, 31; 23—31.
  35. Khaw, B. A.; Scott, J.; Fallon, J. T.; Haber, E.; Homcy, C. Myocardial Injury: Quantitation by Cell Sorting Initiated with Anti-Myosin Fluorescent Spheres. *Science* 1982, 217; 1050—1053.
  36. Khaw, B. A.; Gold, H. K.; Leinbach, R. C.; Fallon, J. T.; Strauss, H. W.; Pohost, G. M.; Haber, E. Early Imaging of Experimental Myocardial Infarction by Intracoronary Administration of <sup>131</sup>I-Labeled Anticardiac Myosin (Fab')<sub>2</sub> Fragments. *Circulation* 1978, 58; 1137—1142.
  37. Khaw, B. A.; Petrov, A.; Narula, J. Complementary Roles of Antibody Affinity and Specificity in In Vivo Diagnostic Cardiovascular Targeting: How Specific is Antimyosin for Irreversible Myocardial Damage. *J. Nucl. Cardiol.* 1999, 6; 316—323.
  38. Khaw, B. A.; Yasuda, T.; Gold, H. K.; Leinbach, R. C.; Johns, J. A.; Kanke, M.; Barlai-Kovach, M.; Strauss, H. W.; Haber, E. Acute Myocardial Infarct Imaging with Indium-111-Labeled Monoclonal Antimyosin Fab. *J. Nucl. Med.* 1987, 28; 1671—1678.
  39. Khaw, B. A. The Current Role of Infarct Avid Imaging in Cardiovascular Nuclear Medicine-I. Seminars in Nuclear Medicine. 1999, XXIX (3); 259—270.
  40. Nedelman, M. A.; Shealy, D. J.; Boulin, R.; Bruntm, E.; Seasholtz, J. I.; Allen, I. E.; McCartney, J. E.; Warren, F. D.; Oppermann, H.; Pang, R. H. L.; Berger, H. J.; Weisman, H. F. Rapid Infarct Imaging with a Technetium-99m-Labeled Antimyosin Recombinant Single-Chain Fv: Evaluation in a Canine Model of Acute Myocardial Infarction. *J. Nucl. Med.* 1993, 34; 234—241.
  41. Calcutt, M. J.; Komissarov, A. A.; Marchbank, M. T.; Deutscher, S. L. Analysis of a Nucleic-Acid-Binding Antibody Fragment: Construction and Characterization of Heavy-Chain Complementarity-Determining Region Switch Variants. *Gene* 1996, 168 (1); 9—14.
  42. Saragovi, H. U.; Fritzpatrick, D.; Raktabut, A.; Nakanishi, H.; Kahn, M.; Greene, M. I. Design and Synthesis of a Mimetic from an Antibody Complementarity Determining Region. *Science* 1991, 253; 792—795.
  43. Painter, R. H.; Freedman, M. H. Isolation and Characterization of Electrophoretically Homogenous Rabbit Antihapten Antibody Populations. II. Survey of the Isoelectric Properties of Antihapten Antibodies Directed Against Charged and Uncharged Proteins. *J. Biol. Chem.* 1971, 246; 1742—1751.
  44. Silva Filho, F. C.; Santos, A. B. S.; de Carvalho, T. M. U.; de Souza, W. Surface Charge of Resident, Elicited, and Activated Mouse Peritoneal Macrophages. *J. Leukocyte Bio.* 1987, 41; 143—149.
  45. Gallagher, J. E.; George, G. Brody AR. Sialic Acid Mediates the Initial Binding of Positively Charged Inorganic Particles to Alveolar Macrophage Membranes. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987, 135; 1345—1352.
  46. Yanagisawa-Miwa, A.; Uchida, Y.; Nakamura, F.; Tomaru, T.; Kido, H.; Kamijo, T.; Sugimoto, T.; Kaji, K.; Utsuyama, M.; Kurashima, C.; Ito, H. Salvage of Infarcted Myocardium by Angiogenic Action of Basic Fibroblast Growth Factor. *Science* 1992, 257; 1401—1403.
  47. Shen, W. -C.; Ryser, H. J. -P. Conjugation of Poly-L-Lysine to Albumin and Horseradish Peroxidase: A Novel Method of Enhancing the Cellular Uptake of Proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1978, 75; 1872—1876.
  48. Gao, X.; Huang, L. Cationic Liposomes and Polymers for Gene Transfer. *J. Liposome. Res.* 1993, 3; 17—30.
  49. Torchilin, V. P.; Klibanov, A. L.; Nossiff, N. D.; Slinkin, M. A.; Strauss, H. W.; Haber, E.; Smirnov, V. N.; Khaw, B. A. Monoclonal Antibody Modification with Chelatelinked High-Molecular-Weight Polymers: Major Increases in Polyvalent Cation Binding without Loss of Antigen Binding. *Hybridoma* 1987, 6; 229—240.
  50. Khaw, B. A.; Klibanov, A.; O'Donnell, S. M.; Saito, T.; Nossiff, N.; Slinkin, M. A.; Newell, J. B.; Strauss, H. W.; Torchilin, V. P. Gamma Imaging with Negatively-Charge-Modified Monoclonal Antibody: Modification with Synthetic Polymers. *J. Nucl. Med.* 1991, 32; 1742—1751.
  51. Narula, J.; Petrov, A.; Ditlow, C.; Pak, K. Y.; Chen, F. W.; Khaw, B. A. Maximizing Radiotracer Delivery for Scintigraphic Localization of Experimental Atherosclerotic Lesions with High-Dose Negative-Charge-Modified Z2D3 Antibody. *J. Nucl. Cardiol.* 1997, 4; 226—233.
  52. Narula, J.; Torchilin, V. P.; Petrov, A.; Khaw, S.; Trubetskoy, V. S.; O'Donnell, S. M.; Nossiff, N. D.; Khaw, B. A. In-Vivo Targeting of Acute Myocardial Infarction with Negative Charge, Polymer-Modified Antimyosin Antibody: Use of Different Cross-linkers. *J. Nucl. Cardiol.* 1995, 2; 26—34.
  53. Carrio, I.; Pieri, P.; Prat, L.; Tison, V.; Pedrini, L.; Moscatelli, G.; Sardi, G.; Estorch, M.; Berna, L. I.; Rimbau, V.; GuJiu, M.; Pak, Ch; Ditlow,

D

- Ch; Chen, F.; Khaw, B. A. In-111 Chimeric Negative-Charged-Z2D3 PLF (ab')<sub>2</sub> in the Detection of Atherosclerotic Plaques. *J. Nucl. Med.* 1995, 36 (5); 133.
54. Johnson, L. L.; Seldin, D. W.; Tresgallo, M. E.; Bhatia, K.; Rodney, R. A.; Gibbons, J. F.; Esser, P. D. Right Ventricular Infarction and Function from Dual Isotope Indium-111-Antimyosin/Thallium-201 SPECT and Gated Blood Pool Scintigraphy. *J. Nucl. Med.* 1991, 32 (Abstract); 1018.
55. van Vlies, B.; van Royen, E. D.; Visser, C. A.; Meyne, N. G.; van Buul, M. M.; Peter, R. T.; Dunning, A. J. Frequency of Myocardial Indium-111 Antimyosin Uptake After Uncomplicated Coronary Artery Bypass Surgery. *Am. J. Cardiol.* 1990, 66; 1191—1195.
56. Narula, L.; Khaw, B. A.; Yasuda, T. Antimyosin Imaging for Acute Myocarditis. *Monoclonal Antibodies in Cardiovascular Diseases*; Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W. Eds.; Lee & Febiger; Philadelphia, 1994; 67.
57. Aretz, H. T.; Billingham, M. E.; Edwards, W. D.; Factor, S. M.; Fallon, J. T.; Fenoglio, J. J.; Olsen, E. G. J.; Schoen, E. J. Myocarditis: A Histopathologic Definition and Classification. *J. Cardiovasc. Pathol.* 1986, 1; 3—14.
58. Frist, W.; Yasuda, T.; Segall, G.; Khaw, B. A.; Strauss, H. W.; Gold, H. K.; Stinson, E.; Oyer, P.; Baldwin, J.; Billingham, M.; McDougall, R.; Haber, E. Noninvasive Detection of Human Cardiac Transplant Rejection with in Antimyosin (Fab) Imaging. *Circulation* 1987, 76; V81—85.
59. Ballester, M.; Obrador, D.; Carrio, I.; Caralps-Riera, J. M. Indium-111 Monoclonal Antimyosin Antibody Studies in the Diagnosis of Rejection and Management of Patients After Heart Transplantation. *Monoclonal Antibodies in Cardiovascular Disease*; Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W., Eds.; Lee & Febiger; Philadelphia, 1994; 79—98.
60. Ballester, M.; Obrador, D.; Carrio, I.; Caralps-Riera, J. M. Indium-111 Monoclonal Antimyosin Antibody Studies in the Diagnosis of Rejection and Management of Patients After Heart Transplantation. *Monoclonal Antibodies in Cardiovascular Diseases*; Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W., Eds.; Lee & Febiger; Philadelphia, 1994; 81.
61. Ballester, M.; Obrador, D.; Carrio, I.; Moya, C.; Auge, J. M.; Bordes, R.; Marti, V.; Bosch, I.; Berna, L.; Estorch, M.; Pons, G.; Camara, M. L.; Padro, J. M.; Aris, A.; Caralps, J. M. Early Postoperative Reduction of Monoclonal Antimyosin Antibody Uptake is Associated with Absent Rejection Related Complications After Heart Transplantation. *Circulation* 1992, 85; 61—68.
62. Chow, L. H.; Radio, S. J.; Sears, T. D.; McManus, B. M. Insensitivity of Right Ventricular Biopsy in the Diagnosis of Myocarditis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1989, 14; 915—920.
63. Becker, A. E.; Heijmans, C. D. Essed CE. Chronic Nonischemic Heart Disease and Endomyocardial Biopsies. Worth the Extra. *Eur. Heart J.* 1991, 12; 218—223.
64. Carrio, I. Diagnosis of Doxorubicin Cardiotoxicity with Indium-111 Antimyosin Fab. *Monoclonal Antibodies in Cardiovascular Diseases*; Khaw, B. A., Narula, J., Strauss, H. W., Eds.; Lee & Febiger; Philadelphia, 1994; 99—108.
65. Narula, J.; Malhotra, A.; Yasuda, T.; Talwar, K. K.; Reddy, K. S.; Chopra, P.; Southern, J. F.; Vasan, R. S.; Tandon, R.; Bhatia, M. L.; Khaw, B. A.; Strauss, H. W. Usefulness of Antimyosin Antibody Imaging for the Detection of Active Rheumatic Myocarditis. *Am. J. Cardiol.* 1999, 84 (8); 946—950.
66. Casans, I.; Villar, A.; Almenar, V.; Blanes, A. Lyme Myocarditis Diagnosis by Indium-111 Antimyosin Antibody Scintigraphy. *Eur. J. Nucl. Med.* 1989, 15; 330—331.
67. Krause, T. H.; Schumichen Cbeck, A.; Lang, B.; Hohnloser, S.; Moser, E. Scintigraphy Using<sup>111</sup>In-Labeled Antimyosin in Churg-Strauss Vasculitis with Myocardial Involvement. *Nuklearmedizin* 1990, 29; 177—179.
68. Hendel, R. C.; Cohen, S.; Aurigemma, G.; Whitfield, S.; Dalberg, S.; Pape, L.; Leppo, J. Focal Myocardial Injury Following Blunt Chest Trauma; A Comparison of Indium-111 Antimyosin Scintigraphy with Other Noninvasive Methods. *Am. Heart J.* 1992, 123; 1208—1215.
69. Spar, I. L.; Goodland, R. L.; Schwartz, S. I. Detection of Preformed Venous Thrombi in Dogs by Means of I-131-Labeled Antibodies to Dog Fibrinogen. *Circ. Res.* 1965, 17; 322—329.
70. Hui, K. Y.; Haber, E.; Matsueda, G. F. Monoclonal Antibodies to a Synthetic Fibrin-Like Peptide Bind to Human Fibrin but not Fibrinogen. *Science* 1983, 222; 1129—1132.
71. Kudryk, B.; Rohoza, A.; Ahadi, M.; Chin, J.; Wiebe, M. Specificity of a Monoclonal Antibody for the NH<sub>2</sub>-terminal Region of Fibrin. *Mol. Immunol.* 1984, 21; 89—94.
72. Kanke, M.; Matsueda, G. R.; Strauss, H. W.; Yasu-



- da, T.; Liao, C. S.; Khaw, B. A. Localization and Visualization of Pulmonary Emboli with Radiolabeled Fibrin Specific Monoclonal Antibody. *J. Nucl. Med.* 1991, 32; 1254-1260.
73. Roberts, A. B.; Lees, A. M.; Lees, R. S.; Strauss, H. W.; Fallon, J. T.; Taveras, J.; Kopiwoda, S. Selective Accumulation of Low Density Lipoproteins in Damaged Arterial Wall. *J. Lip. Res.* 1983, 24; 1160-1167.
  74. Virgolini, I.; Muller, C.; Fitscha, P.; Chiba, P.; Sinzinger, H. Radiolabeling Autologous Monocytes with in Oxine for ReInjection in Patients with Atherosclerosis. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989, 355; 271-280.
  75. Harrison, D. C.; Calenoff, E.; Chen, F.; Parnley, W.; Khaw, B. A.; Ross, R. In Plaque-Associated Immune Reactivity as a Tool for the Diagnosis and Treatment of Atherosclerosis. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 1992, 103; 210-217.
  76. Khaw, B. A.; Calenoff, E.; Chen, F.; O'Donnell, S. M.; Nossiff, N. D.; Strauss, H. W. Localization of Experimental Atherosclerotic Lesion with Monoclonal Antibody Z2D3. *J. Nucl. Med.* 1991, 32 (5); 1005.
  77. Narula, J.; Petrov, A.; Bianchi, C.; Ditlow, C. C.; Dilley, J.; Pieslak, I.; Chen, F. W.; Torchilin, V. P.; Khaw, B. A. Noninvasive Localization of Experimental Atherosclerotic Lesions with Mouse/Human Chimeric Z2D3 Antibody Specific for the Proliferating Smooth Muscle Cells of Human Atheroma; Imaging with Conventional Antibody and Image Enhancement with Negative Charge-Modified Antibody. *Circulation* 1995, 92; 474-484.
  78. Carrio, I.; Pieri, P. L.; Narula, J.; Prat, L.; Pedrini, L.; Riva, P.; Sarti, G.; Pak, Ch; Ditlow, Ch; Chen, F.; Khaw, B. A. In-111 Chimeric Negative-Charged Z2D3 PL-F (ab')<sub>2</sub> Imaging of Proliferating Smooth Muscle Cell in Atherosclerotic Lesions. *J. Nucl. Med.* 1996, 37 (5); 49.
  79. Khaw, B. A.; Carrio, I.; Pieri, P. L.; Narula, J. Radionuclide Imaging of the Synthetic Smooth Muscle Cell Phenotype in Experimental Atherosclerotic Lesions. *Trends Cardiovas. Med.* 1996, 6; 226-232.
  80. Majno, G.; Joris, I. Apoptosis, Oncosis, and Necrosis; An Overview of Cell Death. *Am. J. Pathol.* 1995, 146 (1); 3-15.
  81. Kerr, J. F. R.; Wyllie, A. H.; Currie, A. R. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wide Ranging Implications In Tissue Kinetics. *Br. J. Cancer.* 1972, 26; 239.
  82. Jennings, R. B.; Schaper, J.; Hill, M. L.; Steenberg, C., Jr.; Reimer, K. A. Effect of Reperfusion Late in the Phase of Reversible Ischemic Injury: Changes in Cell Volume, Electrolytes, Metabolites, and Ultrastructure. *Circ. Res.* 1985, 56; 262-278.
  83. Bailik, S.; Geenen, D. L.; Sasson, I. E.; Cheng, R.; Horner, J. W.; Evans, S. M.; Lord, E. M.; Koch, C. J.; Kitis, R. N. Myocyte Apoptosis During Acute Myocardial Infarction in the Mouse Localizes to Hypoxic Regions but Occurs Independently of p53. *J. Clin. Invest* 1997, 100; 1363-1372.
  84. Khaw, B. A.; Torchilin, V. P.; Vural, I.; Narula, J. Plug and Seal; Prevention of Hypoxic Cardiocyte Death by Sealing Membrane Lesions with Antimyosin-Liposomes. *Nature Med.* 1995, 1; 1195-1198.
  85. Weissig, V.; Lasch, J.; Klibanov, A. L.; Torchilin, V. P. A New Hydrophobic Anchor for the Attachment of Proteins to Liposomal Membranes. *FEBS Lett* 1986, 202; 86-90.
  86. Torchilin, D. L.; Klibanov, A. L.; Huang, L.; O'Donnell, S.; Nossiff, N. D.; Khaw, B. A. Targeted Accumulation of Polyethylene Glycol-Coated Immunoliposomes in Infarcted Rabbit Myocardium. *FASEB J.* 1992, 6; 2716-2719.
  87. Khaw, B. A.; Vural, I.; Narula, J.; Haider, N.; Torchilin, V. P. Cardiocyte Viability by Immunoliposome-Cell Membrane Sealing at 1, 2, 3, 4 and 5 Days of Hypoxia. *Proceedings of 23rd International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*. Kyoto, Japan 1996, 617, 618.
  88. Khaw, B. A.; Vural, I.; DaSilva, J.; Torchilin, V. P. In Vivo Myocardial Preservation with Cytoskeleton Specific Immunoliposomes in Acute Myocardial Infarction. *Proceedings of the 27th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*, in press.
  89. Khaw, B. A.; Vural, I.; DaSilva, J.; Torchilin, V. P. Use of Cytoskeleton-Specific Immunoliposomes for Preservation of Cell Viability and Gene Delivery. *STP Pharma Sci.* 2000, 10 (4); 279-283.
  90. Khaw, B. A.; Vural, I.; Torchilin, V. P.; Haider, N.; Narula, J. Expression of Antimyosin sFv Gene in Cardiocytes: Use of Cytoskeleton-Specific Immunoliposomes for Transfection. *Proceedings of 23rd International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials* Kyoto Japan 1996, 135, 136.
  91. Khaw, B. A.; Vural, I.; Torchilin, V. P.; Narula, J. Intracytoplasmic Delivery of Plasmid pGL2 Vector by Cytoskeleton Specific Immunoliposome Transfection. *Proceedings of the 25th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials* 1998; 25, 178, 179.

D

92. Khaw, B. A.; Vural, I.; Narula, J.; Torchilin, V. P. Comparative Efficiencies of Transfection by Cationic Liposomes and Cytoskeleton Specific Immunoliposomes Proceedings of the 26th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 1999; 26, 218, 219.
93. Felgner, P. L.; Ringold, G. M. Cationic Liposome-Mediated Transfection. Nature 1989, 337, 387-388.

(黄冲 张小红 译)

# 滴定测量法

Vesa Virtanen

Orion Pharma, Kuopio, Finland

## 术语及定义

滴定测量或滴定分析是一种定量化学分析，物质的定量测定通过测量该种物质或者与该被测物质完全反应的另一种物质的体积来完成。滴定是一种化学分析过程，通过向供试品中加入一定量可按照明确的已知比例与被测组分发生反应的另一种物质，来对被测组分进行定量测定。滴定中所用的已知确切组分的试剂溶液称为标准溶液。

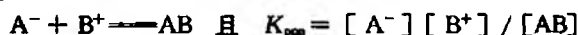
滴定终点称作等当点，此时，所滴加标准溶液的量与待测组分的量恰好符合化学反应计量关系。在实际操作中，通常只需通过观察与之相关的溶液的物理变化即可估计滴定终点。

指示剂是一种辅助化学试剂，在等当点附近其浓度的改变会表现出颜色的变化。

## 沉淀滴定

这类滴定反应通过沉淀反应生成已知组成的不溶物。当加入充足的滴定剂使沉淀反应完全时即达等当点。实际上，所生成的不溶性反应产物会发生轻微的溶解，在一定程度上，取决于体系的溶剂以及所存在的其他离子和化合物的性质和量。

以最简单常见的反应为例，由两种可溶性盐中荷相反电荷的单价阴离子  $A^-$  和阳离子  $B^+$  反应，生成难溶性盐 AB：



其中， $K_{pp}$  是沉淀常数。假设干扰成分可忽略不计，不溶性盐 AB 的浓度可认为是常数：

$$K_{pp} [AB] = [A^-][B^+] = \text{常数} = S_{AB}$$

其中， $S_{AB}$  为溶度积。如果是纯溶液，会存在  $A^-$  和  $B^+$  浓度相同的情况，因此：

$$[A^-] = [B^+] \quad \text{或} \quad [A^-]^2 = [B^+]^2 = S_{AB}$$

在该例中，如果  $[A^-]$  与  $[B^+]$  之积超过  $S_{AB}$ ，则溶液中 AB 出现饱和，该化合物以沉淀形式分离出来<sup>(1)</sup>。

### 1. 滴定曲线

滴定曲线建立在物质摩尔浓度负对数（以 10 为底数）的基础上；通过使用  $p^-$  值或  $p^-$  函数，可以引出所需指示剂的特性以及使用指示剂可能造成的滴定误差。

含有一种阴离子 ( $Cl^-$ ) 的沉淀滴定曲线的一般形状见图 1。用计算所得  $pX$  值绘制的曲线是对称的，而用实验所得氯离子浓度绘制的滴定曲线是不对称的。缺乏对称性的

原因在于，那些离子以不同的量被沉淀物过度吸附。在理论计算时，不考虑这种情况。准确的沉淀滴定会有一个长而陡的 AB 区间，因为 AB 区间的长度取决于反应物的初始浓度以及沉淀物的溶度积。被分析物和试剂浓度的升高增加了等当点区间  $pX$  的变化。

沉淀滴定还可被延伸用于滴定能够形成具有不同溶解度沉淀物的混合物。图 2 中所示  $Cl^-/I^-$  混合物的滴定曲线就是两种阴离子个体滴定曲线的组合。因为碘化银溶解度低于氯化银，初始时加入的试剂几乎全部形成碘化物，因此两个等当点很明显。

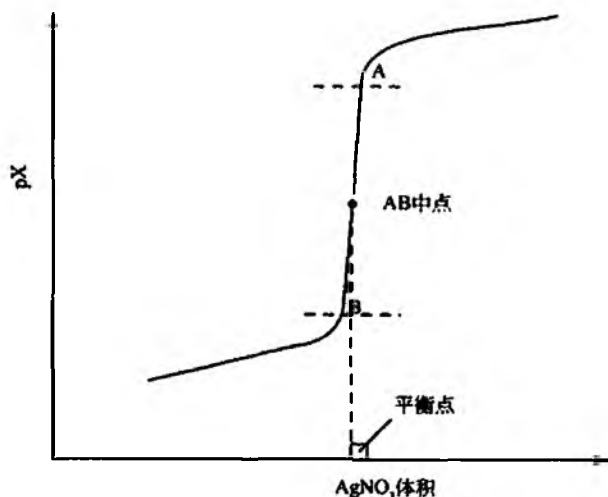


图 1 理论沉淀滴定曲线

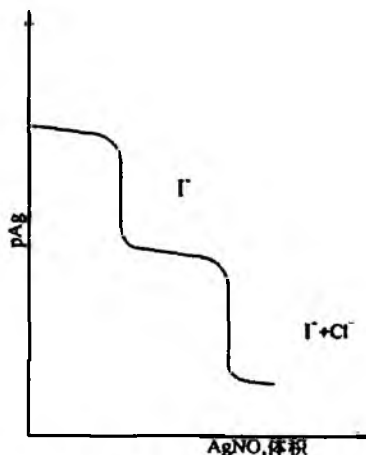


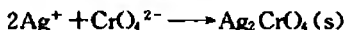
图 2 含有碘离子和氯离子的滴定曲线

## D

## 2. 滴定终点测定

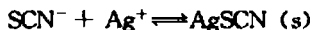
按化学计量关系所得到的等当点应当能立即被检测到,这通常要求溶液当中发生较大的物理或化学性质的变化。反应中等当点的确定通常借助于可以观察到终点的次级反应系统。该系统必须具有重现性,清晰可辨,且与按化学计量关系所得到的等当点尽可能一致。正因为二者经常不能达成一致,故滴定终点与化学等当点之间的差值应当易于测定,而所谓的空白溶液通常就是作为校正用的。化学指示剂可使溶液发生易于观察的变化,通常如颜色、浑浊或具有明显颜色的另一种沉淀。指示剂通过竞争性地与一种反应物或滴定产物发生反应而发挥作用,因此,指示剂必须保持较低的浓度,而在滴定终点时表现出明显的颜色。在一些测定中,电化学传感器是确定化学等当点的准确方式。

Mohr 法检测滴定终点的基础是形成第二种具有很深颜色的沉淀。用硝酸银标准滴定液滴定  $\text{Cl}^-$  和  $\text{Br}^-$  时,采用铬酸根离子为指示剂,通过形成砖红色的铬酸银沉淀指示终点<sup>[2]</sup>。



因为铬酸银较易溶解,所以直到溶液中  $\text{Cl}^-$  滴定完后,铬酸银的  $K_{\text{sp}}$  (溶度积) 值才可被 (离子积) 超过。可以采用 Mohr 法以纯氯化钠标定硝酸银溶液来校正滴定终点。

Volhard 法检测滴定终点使用  $\text{Fe}^{3+}$  作为指示剂<sup>[3]</sup>, 为防止形成氢氧化铁 (三价) 沉淀, 该反应过程要求一个合适的酸度, 该法的缺点在于仅适用于以下反应:



加入的硫氰根离子一旦过量, 指示剂反应如下:



这表明, 测定卤素离子 ( $\text{F}^-$  除外) 需要返滴。在该反应中, 先加入一定量的硝酸银标准滴定液, 过量的银离子通过标准硫氰酸溶液返滴来测定。

吸附指示剂通常是有机染料, 如荧光素及其衍生物。大多数吸附指示剂是弱酸性, 其使用限于碱性、中性和弱酸性溶液, 因为在此环境下指示剂主要以阴离子形式存在。一些阳离子型吸附指示剂适用于强酸性溶液的滴定反应, 在这类反应中, 当沉淀物颗粒具有负电荷时, 才会产生染料的吸附和沉淀物的着色。

当被分析物发生沉淀反应时, 溶液中离子总量会降低, 溶液的导电性会下降。对于一个准确的结果, 以导电性对所加滴定液体积作图, 所得滴定曲线特征如图 3 所示。这项技术适用于稀溶液、浓溶液以及有色溶液。

电池的电动势 (emf) 依赖于溶液中离子的浓度。为确定等当点, 可监测电动势随被分析物浓度的变化。以监测到的电动势对滴定液总体积作图, 所得到的曲线与图 4 所示滴定曲线相似。该技术具有电导法的全部优点, 由所绘制的滴定曲线可以确定滴定终点。

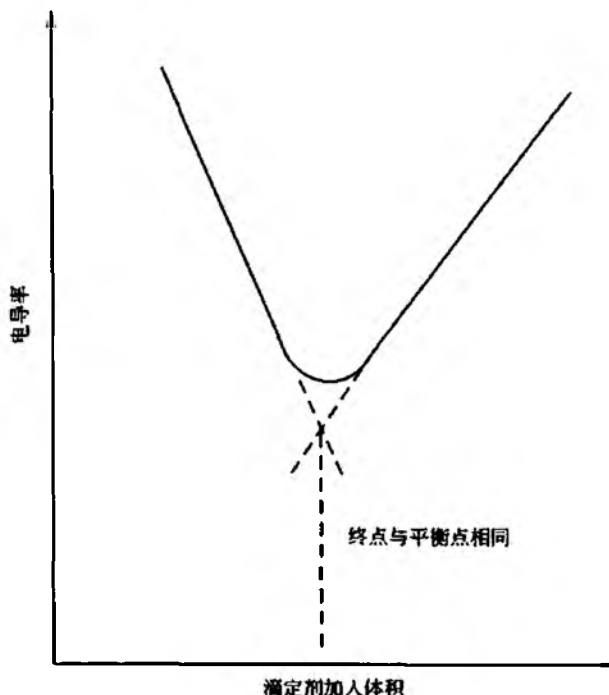


图3 沉淀滴定的电导曲线

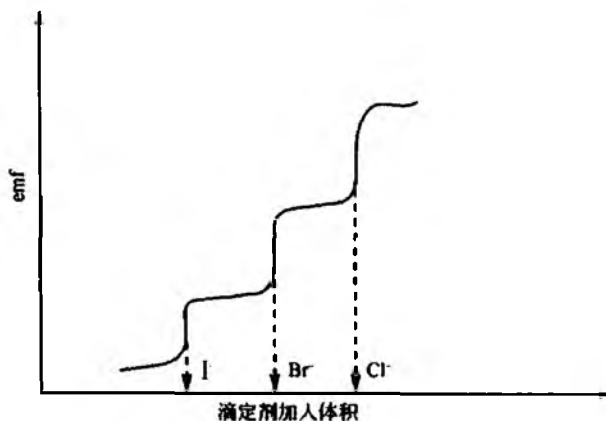


图4 卤素混合离子的滴定曲线

## 3. 应用

大多数沉淀滴定的应用建立在使用标准硝酸银溶液的基础上, 因此有时该法又被称为银量法 (表1)。

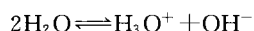
表1 沉淀滴定法的典型应用

被分析物	滴定剂	终点检测
$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{I}^-$	$\text{Ag}^+$	电位滴定
$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{I}^-$	$\text{Ag}^+$	沉淀滴定
$\text{Ag}^+$	SCN	$\text{Fe(III)}$ , 电位滴定
$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$	沉淀滴定
$\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{MoO}_4^{2-}$	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	沉淀滴定

## 中和滴定

### 1. 酸-碱平衡

由于水分子的解离，水溶液中经常包含水合氢离子和氢氧根离子：



某些溶液中这两种离子浓度发生变化，经常对溶液的化学性质产生很大的影响。

根据质量作用定律，水分子的解离可以得出： $K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]$ ，其中， $K_w$  称作水的离子积常数。25℃ 时水的离子积常数是  $1.0 \times 10^{-14} \text{ mol}^2/\text{L}^2$ 。纯水中水合氢离子和氢氧根离子浓度相等，纯水呈中性。

对离子积常数表达式两端同时取负对数，可得到一个有用的关系，即

$$\begin{aligned} -\log K_w &= -\log [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] \\ &= -\log [\text{H}_3\text{O}^+] - \log [\text{OH}^-] \end{aligned}$$

由此可得：

$$\text{p}K_w = -\log K_w = \text{pH} + \text{pOH}$$

其中， $\text{p}K_w$  表示水的离子积常数的负对数。25℃ 时水的  $\text{p}K_w$  为 14，即  $\text{pH} + \text{pOH} = 14.00$ 。

### 2. 缓冲溶液

缓冲溶液在被稀释或加入少量酸或碱时 pH 保持恒定。最有效的缓冲溶液包含较高的、几乎相同浓度的共轭酸碱对。缓冲体系的缓冲作用随着酸或碱的加入而改变。缓冲体系抑制 pH 显著变化的能力与其中起缓冲作用的离子总浓度及不同种类离子的浓度比有关。溶液的缓冲容量定义为使 1.00 L 缓冲溶液 pH 改变 1.00 单位所需强酸或强碱的当量数<sup>[4]</sup>。

### 3. 酸-碱指示剂

中和滴定中滴定终点的检测通常基于等当点附近所发生的 pH 突然变化。简单滴定中常用的采用非仪器法对 pH 的测定所用指示剂，通常为有机染料、弱酸或弱碱，在等当点处或其附近通过解离或结合发生内部结构变化，从而导致颜色变化。可用作酸碱指示剂的几种化合物列于表 2。乙醇是配制指示液的常用溶剂。

表 2 酸-碱指示剂

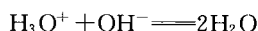
指示剂	pH 范围	颜色变化
甲酚红	0.2~1.8	红~黄
百里酚蓝	1.2~2.8	红~黄
	8.0~9.6	黄~蓝
溴酚蓝	3.0~4.6	黄~蓝
甲基黄	2.9~4.0	红~黄

续表

指示剂	pH 范围	颜色变化
甲基橙	3.1~4.4	红~橙
刚果红	3.0~5.0	蓝~红
溴甲酚绿	3.8~5.4	黄~绿
甲基红	4.2~6.3	红~蓝
溴酚紫	5.2~6.8	黄~紫
溴酚蓝	6.0~7.6	黄~蓝
酚红	6.8~8.4	黄~红
甲酚紫	7.6~9.2	黄~紫
百里酚蓝	8.0~9.6	黄~蓝
酚酞	8.3~10.0	无色~红
百里酚酞	9.3~10.5	无色~蓝
茜素黄 GG	10~12	无色~黄

### 3.1 简单体系的滴定曲线

当反应试剂和被分析物均为强的酸（碱）时，中和反应最简式表达如下：



强酸性水溶液中的水合氢离子有两种来源：溶质与水反应所得或水自身解离所得。

用强碱滴定强酸，初始时为纯酸，逐渐被稀释为中性盐，直至等当点处仅剩中性盐存在。一过等当点强碱量增加。等当点附近 pH 的变化是陡而大的，此时 pH 是否为 7 取决于酸和碱的离子化程度，即酸碱性的强度。

用强碱滴定弱酸，如乙酸，滴定曲线如图 5 所示。最初，因 pH 高于强酸的值，故只存在部分离子化的酸，随着中和反应的进行，更多的酸被离子化，主要以离子化的酸和盐存在，因此，pH 逐渐变化，这被称作缓冲效应。如果用弱碱（如氨）滴定强酸，曲线与之相反。

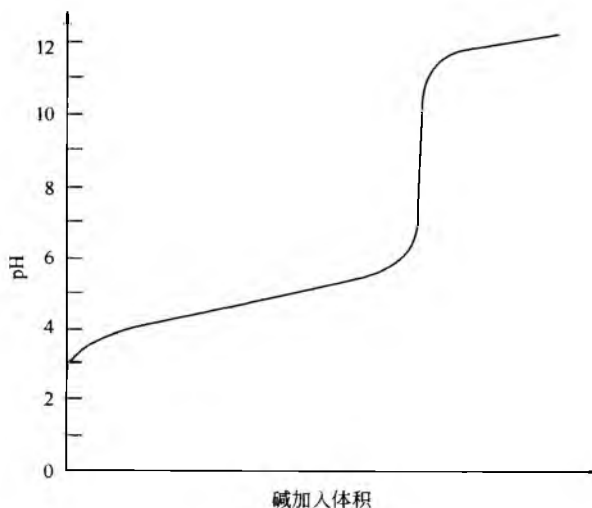


图 5 弱酸-强碱滴定曲线

## D

如果用弱碱滴定弱酸,随着碱的加入,滴定曲线中 pH 呈连续缓慢的变化,加入少量滴定剂不会造成 pH 的显著变化。即使发生显著变化,也不会超过 2 个 pH 单位,该变化无法通过指示剂显示。在等当点的两端均有缓冲液存在,在等当点处, pH 取决于酸碱的强度。

### 3.2 复杂体系的滴定曲线

复杂体系包括:含有或消耗两个或多个质子的两种酸或碱的溶液以及含有兼具酸碱特性的两性化合物。上述所有体系具有一个共同的性质,即描述其行为必须考虑到两个或多个平衡。因此,推导该体系 pH 值的手段较简单体系复杂。

用强碱滴定弱酸及强酸的滴定曲线见图 6,较强的酸优先被中和,一些较弱的酸混在其中。结果,可以得到一条坡状的曲线。尽管存在弱酸的干扰,仍可观察到强酸明显的 pH 变化。当所有强酸都被滴尽后(A点),再滴定较弱的酸(B点)。

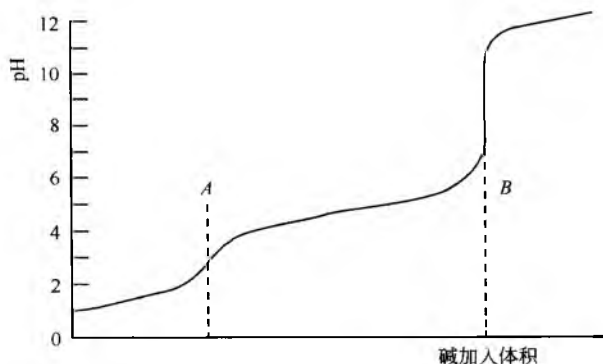


图 6 强酸-弱酸混合体系的碱滴定曲线

具有两个或多个酸或碱性官能团的化合物,当酸及碱的官能团强度有明显差别时,滴定过程中会产生多个滴定终点。对于多质子酸或碱,当  $K_1$  与  $K_2$  之比大于  $10^3$  时,可以通过计算法推导出准确合理的理论滴定曲线( $K_1$ 、 $K_2$  为解离常数)。用氢氧化钠滴定二元弱酸的滴定曲线与图 6 类似。

多元碱滴定曲线的推导过程与前述多元酸相似。

两性物质溶于一种合适的溶剂中时兼具弱酸和弱碱的性质,如果其酸性或碱性尤为明显,则可以用一种强碱或强酸进行滴定。

### 4. 在水介质中的应用

对于有机或生物系统中的一些重要元素的测定,最后一步通常是酸碱滴定反应。一般来讲,这些元素为非金属元素,如碳、氮、氯、溴、硫、磷及氟。但是,另外还有一些类似的方法用于测定一些不常遇到的样品。对于每种情况,该元素要先转化为可被滴定的无机酸或碱。

许多无机试样能用强酸或强碱滴定,如铵盐通过强碱转化为氨,于 Kjeldahl 装置中蒸馏后进行测定。无机硝酸

盐和亚硝酸盐也可以采用 Kjeldahl 法<sup>[5]</sup>,将其还原成铵离子后再测定。

含有羧酸和磷酸根基团的有机化合物具有酸性,大多数羧酸和磷酸易溶于水,可直接用碱来滴定。如果在水中的溶解度不强,可用乙醇溶解,用碱溶液滴定。脂肪胺和许多饱和环状氨基化合物可直接用强酸溶液滴定。酯类的测定通过加入定量的碱标准滴定液进行皂化反应,过量的碱用标准酸溶液返滴。

许多醛、酮的测定需要辅以盐酸羟胺溶液,生成的盐酸用碱滴定。测定溶液中盐的总量,要将盐通过填有离子交换树脂的柱子,从而使之转换为等量的酸或碱,然后相应地用碱或酸来测定。

### 5. 在非水介质中的应用

在冰醋酸中可进行许多有效的滴定,这被广泛用于滴定芳香胺、酰胺、尿素类及其他弱的含氮碱类。在冰醋酸中,大多数氨基酸可以用标准酸溶液直接滴定。

对于那些在水中不能直接滴定的弱酸,可以在碱性溶剂如乙二胺、二甲基甲酰胺、吡啶和二甲基亚砷中进行。铵盐、无机盐、羧酸、苯酚和酰亚胺均溶于乙二胺,且在其中具有更高的酸性。

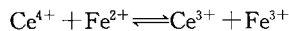
许多磺胺类药物,如氨苯磺胺、磺胺噻唑和酞磺胺噻唑均能在乙胺中用氢氧化四丁基铵来滴定。二甲基甲酰胺对盐、聚合物和许多有机化合物的溶解能力使其广泛用作滴定溶剂。惰性溶剂,如丙酮可用于酸的滴定,乙腈可用于酸和碱的滴定,乙酸乙酯可用于碱的滴定。合适的非水溶剂,如甲基异丁酮,可以区分各种无机酸的酸性,而这些酸在水溶液中是无法分辨的。

## 氧化-还原滴定

### 1. 平衡

物质(元素或化合物)的氧化涉及电子的丢失。反之,物质的还原涉及电子的获得。即在氧化-还原反应体系中,存在电子的转移。

用铈离子(IV)滴定亚铁离子(II):



加入滴定剂后即存在一种化学反应平衡关系。一旦加入铈离子(IV),溶液中即会存在四种离子,离子的量取决于反应平衡常数。在氧化-还原反应体系的化学平衡点,两个半反应的电极电势是相等的,因此,在滴定过程中任一点,  $E_{\text{Ce}^{4+}} = E_{\text{Fe}^{3+}} = E_{\text{system}}$

如果溶液中包含可逆的氧化还原反应指示剂,其电势必须与反应体系相等:

$$E_{\text{in}} = E_{\text{Ce}^{4+}} = E_{\text{Fe}^{3+}} = E_{\text{system}}$$

### 2. 滴定曲线

可以通过测定电池的电动势来测量体系的电势。例如

用铈离子 (IV) 滴定亚铁离子 (II)，电池为



Pt 电极与饱和甘汞电极间的电势差通过测量铁离子 (III) 对电子的亲和力:  $\text{Fe}^{3+} + \text{e} \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$ ，以及铈离子 (IV) 对电子的亲和力:  $\text{Ce}^{4+} + \text{e} \longrightarrow \text{Ce}^{3+}$  来测定。

为滴定曲线而推导  $E_{\text{system}}$  数据，可使用  $E_{\text{Ce}^{4+}}$  或  $E_{\text{Fe}^{3+}}$ 。在到达等当点的一瞬间，铈离子 (IV) 浓度很低，亚铁离子 (II)、铁离子 (III) 和铈离子 (III) 浓度可通过加入滴定剂的量测定。

将 Nernst 方程用于  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  离子对，可直接得出体系的电势。通过  $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$  离子对会得到相同的结果，但首先必须计算出铈离子 (IV) 的浓度，而这一步又需要计算反应的平衡常数。

如图 7 所示，当滴定反应进行到终点附近时， $E$  值发生快速变化。实际上，其滴定曲线与酸-碱中和滴定曲线具有同样的基本形状。运用 Nernst 方程计算半反应可计算出滴定终点的确切值。

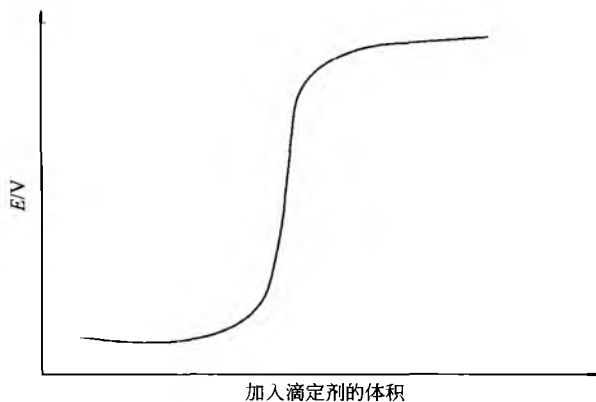


图 7 铈 (IV) 滴定铁 (II) 的滴定曲线

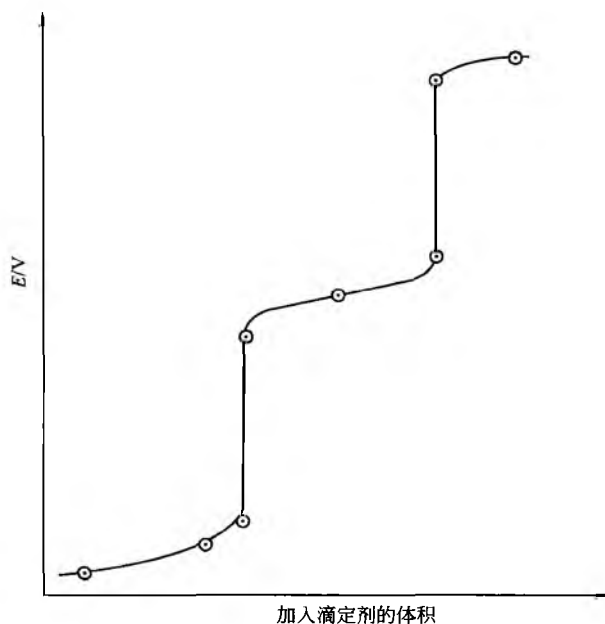


图 8 铈离子 (IV) 滴定亚铁离子 (II) 和钛离子 (III) 的滴定曲线

氧化-还原滴定曲线的形状取决于所研究系统自身的性质。图 7 中的滴定曲线关于等当点对称，因为氧化剂与还原剂的摩尔比等于 1。产生不对称曲线是因为比例偏离该值。含有两种氧化剂或还原剂的溶液，如果两个离子对间标准电势相差约 0.2V 以上，其滴定曲线包含两个拐点，图 8 所示为铈离子 (IV) 滴定亚铁离子 (II) 和钛离子 (III) 混合物的滴定曲线。初始时加入的铈离子 (IV) 先和易于氧化的钛离子 (III) 反应，即滴定曲线第一步是钛离子的反应，第二步是亚铁离子的反应。

### 3. 氧化-还原指示剂

某种指示剂发挥作用归因于与滴定中的某一组分发生反应。最常见的指示剂是淀粉，它与碘离子反应生成蓝黑色的复合物。又如，硫氰酸钾是硫酸钛 (III) 溶液滴定铁离子 (III) 所用的指示剂。

氧化-还原指示剂实质上是一种化合物，其氧化态和还原态具有明显不同的颜色 (见表 3)。对于典型的氧化-还原反应指示剂，其颜色变化的半反应如下：

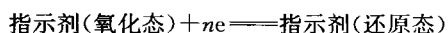


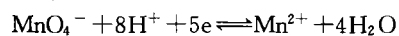
表 3 一些氧化还原指示剂

指示剂	颜色变化 (氧化型-还原型)	转变点电位/V
靛蓝-磺酸盐	蓝色~无色	+0.26
酚酞花红	红色~无色	+0.28
靛蓝四磺酸盐	蓝色~无色	+0.36
亚甲蓝	蓝色/绿色~无色	+0.53
二苯胺	紫色~无色	+0.76
对乙氧基菊橙	黄色~红色	+0.76
二苯胺磺酸	红色/紫红色~无色	+0.85
Eriocaulin A	红色~黄色/绿色	+0.98
菲咯啉铁 (II)	淡蓝色~红色	+1.11
2, 3-二苯胺二羧酸	蓝色/紫色~无色	+1.12

### 4. 应用

#### 4.1 标准氧化剂

强氧化剂高锰酸钾 ( $\text{KMnO}_4$ ) 是一种广泛应用的氧化试剂，通常以 0.1N<sup>①</sup> 或更高浓度在无机酸环境下使用，产物是锰离子 (II)：



但是，高锰酸钾能氧化氯离子是一缺点，因为盐酸是非常有用的溶剂，此外，高锰酸钾稳定性较差。

例如，在下列几种物质的测定中，高锰酸钾用作氧化剂：锡、过氧化氢、铁、钒、钼、钨、铀、钛、镁、钙、锌、钴、铅、银、钾、钠和亚硝酸等。

① N 为非法定单位。为遵从原著，本书仍沿用这一用法。

## D

铈离子(IV)的硫酸溶液与高锰酸钾具有几乎同样的氧化性,在许多应用中可以替代高锰酸钾。铈(IV)不像高锰酸钾那样以可察速率氧化氯离子,其稳定性不可确定。另一方面,铈(IV)的颜色不够深,不能用作指示剂,且该试剂不能用于中性或碱性溶液中。

重铬酸钾因具有较低的氧化强度和较慢的反应速率,使其应用受到一定限制。该试剂可用于测定亚铁离子。

碘是一种相对较弱的氧化剂,用于选择性测定较强的还原剂。碘可用来测定砷、锑、锡、二氧化硫、硫代硫酸根离子以及  $N_2H_4$  等。其最大的优点是可以作为一种灵敏、可逆的指示剂使用;其缺点是碘溶液具有较低的稳定性,且它与许多还原试剂间的反应不完全。

在有机分析中,溴酸钾是溴的一个便利来源。有机化合物直接滴定,反应很难充分、快速地进行。因此,通常在样品中加入定量过量的溴,反应结束后,用砷(III)溶液回滴过量的溴。利用溴代反应分析的有机化合物有苯酚、对氯苯酚、水杨酸、乙酰水杨酸、间甲酚、苯胺、对氨基苯磺酸和  $\beta$ -萘酚。溴通常用作评价脂肪、油、石油制品中烯的不饱和度。

#### 4.2 还原剂

还原剂易与空气中的氧气反应,故滴定反应操作以及试剂保存均应在惰性气体中。此外,可以用一种稳定的标准氧化剂进行滴定以测定此还原剂的当前浓度。

多种氧化剂,如铬(VI)、铈(IV)、钼(VI)、硝酸根离子、羟胺及有机过氧化物等的测定通过与定量过量的标准亚铁溶液(II)反应,用标准重铬酸钾回滴。

碘离子( $I^-$ )是一种中效的还原剂,使用时,用硫代硫酸钠标准溶液滴定由被测物与过量碘化钾反应所产生的碘( $I_2$ )。采用碘量法测定的物质有: $IO_4^-$ 、 $IO_3^-$ 、 $BrO_3^-$ 、 $ClO_3^-$ 、 $Br_2$ 、 $Cl_2$ 、 $O_2$ 、 $O_3$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $NO_2^-$  和有机过氧化物等。

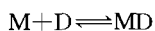
固体以及许多有机酸、醇、酯、醚、酐和卤化物中的水分含量可以通过 Karl-Fischer 试剂(由碘、二氧化硫、吡啶和甲醇组成)滴定测定<sup>[6]</sup>。

## 络合滴定

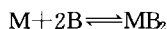
金属离子可作为电子对受体,与电子对供体反应形成配位化合物或络合物离子。供电子体或配体必须具有至少一对未共用电子以成键。络合反应在分析应用中的显著增加归因于一种称作螯合剂的特殊配位化合物。该类化合物由金属离子和含有两个或两个以上供电基团的配体反应而成。螯合物的性质与母体阳离子具有显著区别。

#### 1. 滴定曲线

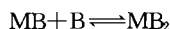
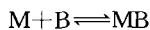
按理论值的  $p$  (负对数) 函数对滴定液体积作图,所需数据要用到生成常数或稳定常数(图9)。配位数是4的金属离子 M 与四齿配位体 D 之间的反应平衡关系表示如下:



同理, M 与二齿配位体 B 之间的平衡关系如下:



$MB_2$  的最终形成分两步进行,中间包含 MB 的形成:



分步反应生成常数如下:

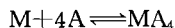
$$K_1 = [MB] / [M][B]$$

$$K_2 = [MB_2] / [MB][B]$$

反应总平衡常数等于两个分步反应平衡常数之积,即

$$K_{\text{overall}} = [MB_2] / [M][B]^2 = K_1 K_2$$

M 与简单的单齿配位体 A 络合存在以下总体平衡:



该过程同样存在分步反应,反应总平衡常数等于4个分步反应平衡常数之积。

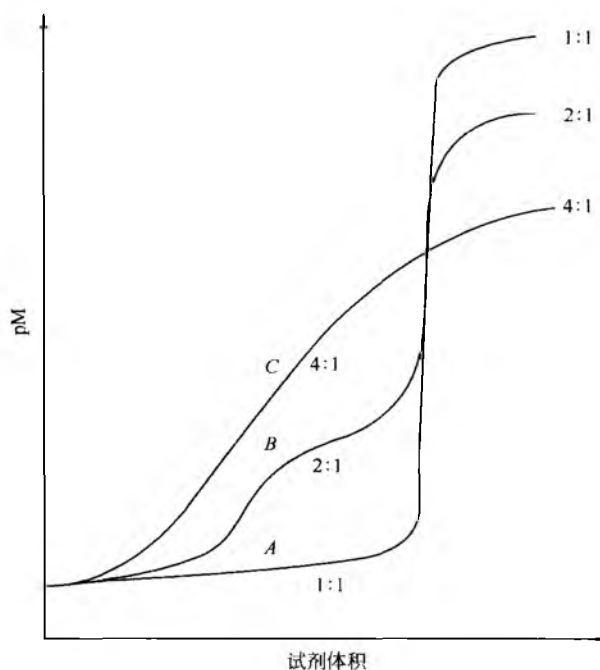


图9 络合滴定曲线。四齿配体 D (曲线 A), 二齿配体 (曲线 B) 和单齿配体 (曲线 C)

#### 2. 终点测定

在一些络合滴定当中,反应终点通过固相的形成与消失来指示。例如,用银离子滴定氟化物,溶液为澄清状,银离子一过量即形成白色固态物,标志着终点的到来。多数常规配体的供电基团不但容易与金属离子结合,而且易与质子结合。因此,络合滴定等当点处通常伴随显著的 pH 变化,可用酸碱指示剂指示终点。

可溶性有色络合物的形成和消失也可指示终点。许多能和特定金属元素形成有色络合物的试剂因此用作该类滴定反应的指示剂。如果被滴定的阳离子能与指示剂显色,可通过颜色的消失指示终点。如果该阳离子不能生成有色



络合物，加入第二种可以显色的阳离子，这样，滴定剂刚过量络合物颜色即消失。

### 3. 应用

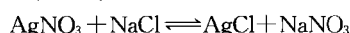
无机络合剂，如硝酸汞、硝酸银、硫酸镍和氰化钾等，可以用于络合滴定。 $\text{Hg}^{2+}$ 与大多数阴离子（如  $\text{Br}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SCN}^-$ 、 $\text{CN}^-$  和硫脲）形成中性络合物，这些阴离子能和硝酸银形成沉淀。

$\text{AgNO}_3$  与  $\text{CN}^-$  反应生成  $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$ ，碘是指示剂，滴定终点通过  $\text{AgI}$  沉淀来指示。 $\text{NiSO}_4$  也可用于测定  $\text{CN}^-$ ，以  $\text{AgI}$  为指示剂，滴定终点也以  $\text{AgI}$  指示。 $\text{KCN}$  分别与  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  反应，生成  $\text{Cu}(\text{CN})_4$ 、 $\text{Hg}(\text{CN})_2$  和  $\text{Ni}(\text{CN})_4$ ，许多指示剂可用于指示终点<sup>[7]</sup>。

许多同时含有羧酸基团的叔胺化合物能与众多金属离子形成非常稳定的螯合物。采用直接滴定法以金属离子指示终点，乙二胺四乙酸（EDTA）可用于测定 40 多种元素<sup>[8]</sup>。直接滴定法仅限于可与 EDTA 快速反应的金属离子。测定与 EDTA 能够稳定络合且缺少合适指示剂的阳离子时，采用返滴方式非常有效。EDTA 还可用于测定水的硬度，即水中钙、镁离子总浓度，用碳酸钙当量表示。

## 电位滴定

在电位滴定中随着离子的变化，连续检测一种离子活度的变化，例如：



在反应中，向氯化钠水溶液中加入硝酸银滴定液，监测氯离子的活度变化。通常在反应开始时和加入少量滴定剂后测定参比电极和指示电极之间的电压，无需考虑等当点的重现性，对参比电极的要求也较为一般。电位滴定的准确度较直接电势测定高，因为所测定的是滴定等当点处发生的电压快速变化。考察电动势变化与消耗滴定液体积间的关系较考察电动势绝对值更有意义。电位滴定法降低了液接电位和活度系数的影响。玻璃电极的酸碱误差发生在极端 pH 处，对等当点处影响较小。

### 1. 滴定曲线和终点

在电位滴定当中，以电池电动势为纵坐标，以所加入的滴定液体积为横坐标，绘制滴定曲线（图 10）。要以能够准确测量的最小量加入滴定剂，从而提供足够的点数，尤其在等当点附近更应如此。等当点附近的电动势变化最大。最直接的方法是取滴定曲线中陡然上升段的中点作为滴定终点。

第二种方法是计算每单位体积滴定液导致电势变化值（ $\Delta E/\Delta V$ ）。用观察法，终点可定位在滴定的曲线拐点处。该点对应于加入的单位体积（通常为 0.05mL 或 0.1mL）滴定液所致电池电动势变化最大值，一阶导数法建立在 S 形滴定曲线基础上。

二阶导数法是一阶导数法的延伸，二阶导数的数据在

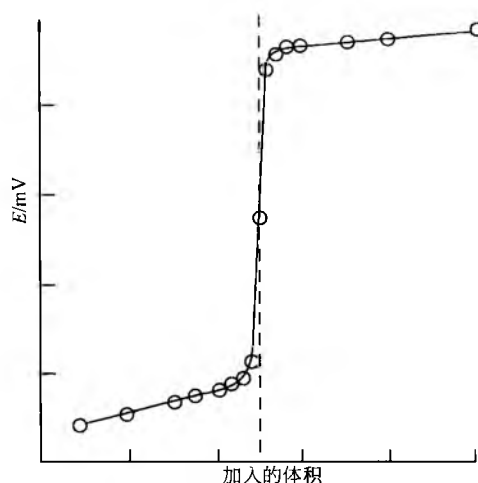


图 10 电位滴定曲线

滴定曲线的拐点处产生符号变化。该变化通常用作自动滴定仪的分析信号。

Grans 法<sup>[9,10]</sup>运用了 Nernst 方程：

$$E = E^* + S \log C_i$$

式中：S 为电极斜率； $E^*$  为  $E' \pm (0.0591/n) \log C_i$ ； $E'$  为合并参比电极电压、含供试液的半电池和离子选择电极间的标准电压的常数。将上述方程重排，得到

$$\log C_i = (E - E^*)/S$$

或

$$\begin{aligned} C_i &= \log^{-1} [(E - E^*)/S] \\ &= [\log^{-1} (-E^*/S)] [\log^{-1} (E/S)] \end{aligned}$$

第一个反对数式是常数，故有

$$C_i = \text{const} \cdot [\log^{-1} (E/S)]$$

如果 i 物质在滴定过程中消失，则其消失以线性方式进行，该反对数式呈线性方式下降。以  $\log^{-1} (E/S)$  对加入滴定液体积作图，得到一条直线，其与体积轴的截距即为等当点，如图 11 所示。

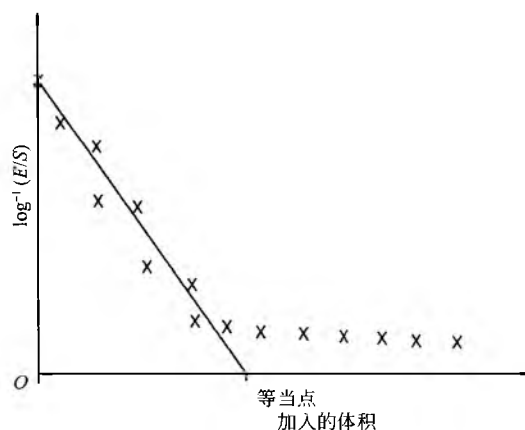


图 11 电位滴定的 Gran 点

## D

## 2. 应用

## 2.1 沉淀和络合滴定

沉淀滴定的指示电极通常是产生反应阳离子的金属。可用对滴定过程中涉及的某种离子敏感的膜电极,例如,测定牙膏中的含氟量时,用到氟敏感性膜电极,以镧(III)溶液作为沉淀剂。

硝酸银是沉淀滴定(包括终点的电位测定)中最常用的试剂,银量法通常用于测定卤化物、含卤物、硫醇、硫化物、磷酸盐、草酸盐和砷酸盐等。在用电位法测定上述离子时,银电极作为指示电极。如果试剂和被分析物浓度等于或高于 $0.1\text{mol/L}$ ,则使用甘汞电极。在稀溶液中,盐桥中氯离子的轻微渗漏会导致较大的误差来源,而在稍浓的溶液中则不会如此。

在电位测定中汞电极可用于测定与EDTA结合的29种二价、三价和四价阳离子<sup>[11,12]</sup>。

## 2.2 中和滴定

酸碱电位滴定法尤其适用于分析酸(碱)混合物或多质子酸(碱),因为该法可区别滴定终点。可以根据电位滴定曲线大致估计弱酸(碱)的解离常数。理论上讲,从曲线上任意一点均可得出该数值,但从半中和点的pH最易得到。

以弱酸HA为例,假设在滴定中点存在 $[\text{HA}] = [\text{A}^-]$ ,即得

$$K_a = [\text{H}^+][\text{A}^-] / [\text{HA}] = [\text{H}^+]$$

从而得到

$$\text{p}K_a = \text{pH}$$

必须说明的是,这个等式是不恰当的,因为计算时应运用活度:

$$K_a = [\text{H}^+] f_{\text{H}^+} [\text{A}^-] f_{\text{A}^-} / [\text{HA}] f_{\text{HA}}$$

又因为 $[\text{HA}]$ 与 $[\text{A}^-]$ 相等,故

$$K_a = [\text{H}^+] f_{\text{H}^+} f_{\text{A}^-} / f_{\text{HA}}$$

## 2.3 氧化-还原滴定

在氧化-还原滴定中,与任意一种反应物的氧化、还原型的浓度比相关的电极电势是滴定体积的函数。指示电极必须对至少一个反应对有响应。氧化-还原滴定的指示电极通常由铂、金、汞或钯等构成,所选金属不能与反应中的组分发生作用。用作指示电极的金属应仅作为传递电子的媒介。

## 3. 自动滴定仪

滴定的全过程可以通过滴定仪自动完成,滴定仪通常配备微机、模数转换器和专门的软件等<sup>[13]</sup>。应用最广的可自动添加试剂的装置由一个经过校正的注射器组成,该注射器由电动千分尺推进器驱动,滴定消耗的体积通过推进器的转数来确定。

另一种方法是运用经校正的电位计在电极上预先设置等当点电压。该电压与电极电压之差会产生一个放大的“误差”信号,合上开关从而导致电流通过电磁铁控制的滴定管阀门。当该信号达零,通过电磁阀的电流被切断,滴定液停止流动。

二阶导数滴定仪的优点是无需预先知道等当点电压,信号处理器会计算指示电极的电极电势的二阶导数。二阶导数的信号改变符号时切换装置关闭滴定液的流通。

全自动滴定仪可以处理置于转盘上的一系列样品,每次滴定后,转盘旋转,将下一个待测样品置于电极下方,开始滴定。

## 电导滴定

## 1. 原理

电解质溶液中电流的传导过程包括荷正电的离子向负极迁移以及荷负电的离子向正极迁移,溶液的导电性是测定用指定电力产生的电流,它与溶液中带电物种的数量直接相关<sup>[14]</sup>。溶液的电导 $L$ 是电阻的倒数,单位是姆欧:

$$L = 1/R$$

其中, $R$ 是电阻,单位是欧姆。

电导与均匀导体的长度( $l$ )成比例,即:

$$L = kA/l$$

其中, $k$ 为比例常数,称作电导率; $A$ 是表面积。

当量电导 $\Delta$ 定义如下:距离为1cm的电极间含有的1当量的溶液的导电性。当间距为1cm的电极间含有的溶液浓度为1N时,该值与 $L$ 相等。包含1N的溶液体积为 $V(\text{cm}^3)$ 时,即有:

$$V = 1000/C$$

式中: $C$ 是每升的当量浓度。

体积( $V$ )也可以表示为池体的尺寸,即

$$V = LA$$

当 $l$ 为1cm时,

$$V = A = 1000/C$$

当 $L = kA/l$ ,且 $\Delta = L$ 时,则

$$\Delta = 1000k/C$$

电导滴定法是在连续加入滴定试剂后测定样品的导电性。滴定终点通过以电导或电导率对所加滴定液的体积作图绘制的曲线得出。在滴定过程中,溶液的体积一直在增加,由于这一因素的影响,如果电导不经校正,则不会产生线性滴定曲线,为了保证滴定体系体积变化较小,滴定液浓度应至少是被滴定液浓度的10倍。电导滴定过程中通常需要采取温控措施,因为温度与电导测定的相关性大约为 $2\%/^{\circ}\text{C}$ 。

## 2. 滴定曲线

电导滴定所得的滴定曲线具有多种形状,取决于测定时所研究的化学体系。通常呈直线段,在等当点两侧具有

不同的斜率,如前述图3所绘。为确定电导滴定终点,在进行体积校正后,以电导作为滴定体积的函数绘制曲线。将两段线性部分外推,相交点即等当点。滴定反应经常无法反应完全,在等当点区域附近,电导滴定曲线总是偏离严格的线性。

电导滴定法的优点是可用于相对不易平衡的滴定。

### 3. 应用

#### 3.1 酸-碱滴定

中和滴定尤其适用于电导滴定,因为与反应产物的导电性相比,氢离子和氢氧根离子具有更高的导电性。在强酸的中和反应当中,氢离子被相等数量的钠离子取代,与氢离子相比钠离子移动性相对较弱,因此经取代后导电性下降。在等当点处,氢离子和氢氧根离子浓度最低,溶液的导电性最弱。滴定终点过后,由于钠离子和过量的氢氧根离子的增多滴定曲线斜率反转,除等当点附近区域,电导与所加入碱液的体积呈现良好的线性。极稀溶液可准确分析。

在电导滴定中,滴定终点过后导电性的变化归因于氢氧根离子浓度的增加,很弱(如硼酸)或相对较弱(如乙酸)的酸可通过电导滴定来测定。

如果滴定液是弱电解质(如氨水),滴定曲线基本呈水平状经过等当点,这样能够减少曲线外推带来的不可靠性。用强酸滴定弱碱(如乙酸根离子),生成盐和非解离的乙酸。滴定终点过后,随着过量氢离子的加入,导电性急剧增强。对于那些酸碱性太弱,无法通过指示剂判断滴定终点的盐,通常采用电导测定法滴定。对于解离度不同的两种酸混合物,采用电导法测定往往较电位滴定法更准确。

#### 3.2 沉淀和络合滴定

图12绘制了用硝酸银滴定氯离子的滴定曲线,所有氯离子被滴定完全后,过量的硝酸银会导致导电性的快速增强。曲线初始部分的斜率是下降还是上升,取决于被测离子和试剂中取代被测离子的相同电荷离子间的相对导电性。慢反应和共沉淀是造成沉淀和络合滴定困难的原因。

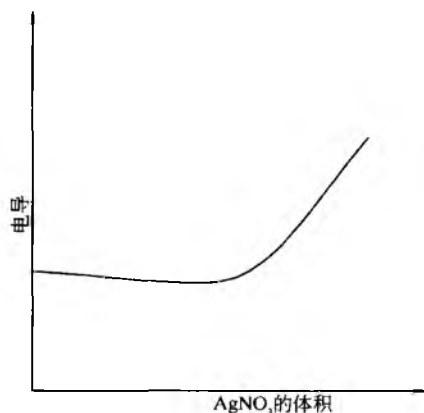


图12 硝酸银滴定氯离子的曲线

## 库仑滴定

### 1. 原理

库仑滴定法是以电极反应生成物为滴定剂,与待测物发生反应。在某些分析中,有效电极反应仅用于生成反应试剂。在另外一些滴定中,待测物也可直接在发生电极上发生反应<sup>[15]</sup>。在库仑滴定中,电流应维持在恒定、准确的已知水平,达到等当点所需要的时间与该电流的乘积可得库仑数,从而可得电解反应的当量数。库仑(C)是指由一安培的恒定电流在一秒钟内所传送的电荷量。法拉第常数(F)是指在电极处发生当量化学变化时所需的电荷量<sup>[16]</sup>。

所谓的一级滴定技术仅适用于银、银-卤化银或汞合金电极,它们是试样的来源。被测物在电极直接反应,或和工作电极处电解制备的试剂发生反应。该类滴定通常仅限于非扩散型试剂,如汞合金、金属银作阳电极所产生的银离子,以及通过银-卤化银电极还原反应所产生的卤化物。

在二级库仑滴定中,以氧化-还原缓冲液作为滴定前体。通过电极反应滴定前体必须以100%的效率生成活性中间体,该中间体必须快速、完全地与被测物发生反应。

如果指示剂本身不具备电活性,则通过加入有色指示剂指示终点。在酸-碱滴定和氧化-还原滴定中,通常使用电位测定和分光光度法指示终点。电流测定法适用于氧化-还原和离子结合反应,尤其适用于稀溶液。

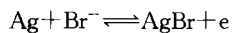
库仑滴定最明显的优点在于,它排除了由标准溶液制备、标化和储存所带来的问题,这对于不稳定物质(如氯、溴等)尤为重要。另一个优点是反应试剂用量小。仪器操作简单,一个稳流电源即可用于产生沉淀、氧化-还原及中和反应试剂。而且,库仑滴定容易实现自动化。

库仑滴定中典型的误差来源是电解过程中电流的变动以及电流和时间的测定误差。电流效率无法达到100%是最大的误差来源。在某些情况下,等当点并非滴定终点。

### 2. 应用

#### 2.1 中和滴定

弱酸和强酸均可以用电解制备的氢氧根离子准确滴定。在使用时,铂电极必须通过薄膜隔离,用以消除氢离子的潜在干扰。可以将氯离子和溴离子任选其一加入溶液中,以银丝作为阳极,电极反应如下:



这样,阳极产物就不会干扰中和反应了。

强碱和弱碱可以用铂电极上生成的氢离子滴定。

同理,阴极也必须与溶液隔离,以防止电极生成的氢氧根离子干扰。

#### 2.2 沉淀滴定和络合滴定

阳极产生的银离子可用于对多种物质进行沉淀滴定。

## D

可使用由一段银丝构成的电池,被沉淀物有  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$ 、 $\text{I}^-$  和硫醇等。与之类似,以汞电极为阳极,生成的  $\text{Hg}^+$  可用于测定  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$ 、 $\text{I}^-$ 。

乙二胺四乙酸 (EDTA,  $\text{H}_4\text{Y}$ ) 的络合能力已被用于金属离子的库仑滴定,该法通过还原镉离子或二价汞离子与 EDTA 的螯合物,用析出的阴离子 EDTA 滴定金属离子 (如镁)。

### 2.3 氧化-还原滴定

包括氧化-还原反应在内的库仑滴定的应用见表 4。电解生成的氧化剂 (如溴) 在有机分析中尤为有用。

表 4 氧化-还原反应的库仑滴定

试剂	待测物
$\text{Br}_2$	$\text{As}^{3+}$ , $\text{Sb}^{3+}$ , $\text{U}^{5+}$ , $\text{NH}_3$ , $\text{NH}_2\text{OH}$ , 苯酚, 苯胺
$\text{Cl}_2$	$\text{As}^{3+}$ , $\text{I}^-$
$\text{I}_2$	$\text{As}^{3+}$ , $\text{Sb}^{3+}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{S}$
$\text{Ce}^{4+}$	$\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Ti}^{3+}$ , $\text{U}^{4+}$ , $\text{As}^{3+}$ , $\text{I}^-$ , $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$
$\text{Fe}^{2+}$	$\text{Cr}^{6+}$ , $\text{Mn}^{7+}$ , $\text{V}^{3+}$ , $\text{Ce}^{4+}$
$\text{Ti}^{3+}$	$\text{Fe}^{3+}$ , $\text{V}^{5+}$ , $\text{Ce}^{4+}$ , $\text{U}^{6+}$
$\text{C}_2\text{Cl}_3^{2-}$	$\text{V}^{5+}$ , $\text{Cr}^{6+}$ , $\text{IO}_3^-$

## 电流滴定法

### 1. 原理

如果滴定中至少有一个反应物或生成物在微电极处被氧化或还原,即可用极谱法来判断等当点。当在两个电极之间施加恒定电压时,可测定电流,并以电流对滴定液体积绘图,即为电流滴定法。对于工作电极和参比电极电对,加在指示电极上的电压相对于参比电极应是一恒定数值,测定极限电流,该值与一个或多个反应物或滴定产物浓度成正比。

电流滴定法易于实现自动化,当电流达到一个特定值时,滴定仪自动停止滴定。将滴定液加入空白溶剂中,直至达到特定电流水平时 (滴定液停止加入),加入样品,再次开始滴定,直至达到特定电流水平时 (滴定停止)。

为达到电流与滴定液体积间的线性关系,要对稀释进行校正。如果滴定试剂较被测溶液浓度高 10 倍,校正可以省略。电流滴定与电导滴定的一个共同点在于可以很好地收集远离等当点的数据,因此适用于那些相对不完全的反应。

### 2. 滴定曲线

电流滴定法的典型滴定曲线如图 13 所示。图 13 (a) 所示的滴定反应是被测物在电极处发生反应 (被还原),而滴定试剂不发生反应。施加足够高的电压会产生一个扩散电流,当由于沉淀反应使溶液中的被测物离子被消除时,

电流呈线性减小。等当点附近的弯曲表明在该区域分析反应不完全。滴定终点可通过直线部分外推得到;对于滴定试剂在微电极处发生反应 (被还原),而被测物未发生反应的情况,滴定曲线与前者几乎呈镜像关系 [图 13 (b)];电流滴定的第三种常见情况是试剂和被测物均在电极处发生反应 (均被还原),滴定曲线如图 13 (c)。

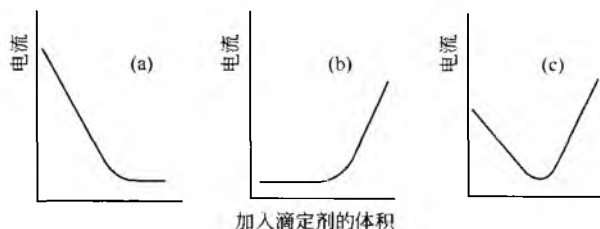


图 13 电流滴定曲线。(a) 分析物被还原,试剂不被还原; (b) 试剂被还原,分析物不被还原; (c) 试剂和分析物均被还原

### 3. 具有两个极化微电极的电流滴定

电流滴定法的一个改进是将两个静态微电极浸入充分搅拌的待测液中<sup>[17]</sup>,在两个电极间外加一低电压,电流流量是所加滴定剂体积的函数。

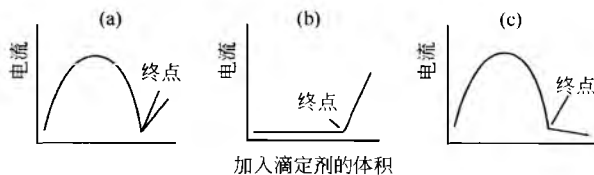


图 14 具有两个极化电极的滴定曲线。(a) 两个反应物在电极上呈可逆反应; (b) 仅试剂呈可逆反应; (c) 仅分析物呈可逆反应

#### 3.1 氧化-还原滴定

在氧化-还原滴定中,通常采用两个相同的铂电极指示终点。氧化-还原滴定曲线中,滴定剂和被测物在电极上均可逆的情况,例如,用  $\text{Ce}^{4+}$  滴定  $\text{Fe}^{2+}$  [图 14 (a)]。开始滴定时无电流通过,因为阴极无合适的反应物。随着  $\text{Ce}^{4+}$  的加入,产生了  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{3+}$  混合物,从而产生了电流。过了滴定中点,  $\text{Fe}^{3+}$  过剩,于是电流受逐渐减少的  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度控制。等当点处电流趋于零,因为仅有  $\text{Fe}^{3+}$  存在,所加电压不足以使之产生电极反应。等当点过后,电流又开始上升,因为  $\text{Ce}^{3+}$  和  $\text{Ce}^{4+}$  同时存在,在电极处发生反应。

对于仅滴定剂属可逆电对的情况,所得到的滴定曲线是另一种形状。虽然加入的滴定剂可以作为阳极反应试剂,但由于被测物在铂电极表面的还原反应的缓慢,阴极没有反应物,因此无电流通过。超过等当点,电池可发生去极化,电流强度取决于试剂浓度 [图 14 (b)]。对于仅有被测物为可逆电对时,等当点前,电流强度取决于少量的试样的浓度。在等当点处,电流为零。等当点过后,仍无电

流通过，因为滴定剂是不可逆电对 [14 (c)]。

### 3.2 沉淀滴定

采用两个相同的 Ag 电极，可以观察到很多以  $\text{AgNO}_3$  为沉淀剂的滴定终点 (表 5)。等当点前，基本无电流产生，因为用银离子滴定被测物时，将一个小电压加在这样两个电极上，溶液中没有易于还原的离子。等当点过后，由于存在一定量银离子并反应生成银，阴极去极化，由于该半反应的发生，产生电流，且在阳极银离子发生相应的氧化反应。电流的大小与过量试剂的浓度成正比。

表 5 沉淀反应的电流滴定试剂

试剂	待测物
$\text{AgNO}_3$	$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{I}^-$ , $\text{CN}^-$ , $\text{RSH}$
铜铁试剂	$\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Fe}^{3+}$
丁二酮肟	$\text{Ni}^{2+}$
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	$\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{MoO}_4^{2-}$ , $\text{F}^-$ , $\text{Cl}^-$
8-羟基喹啉	$\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Al}^{3+}$ , $\text{Bi}^{3+}$ , $\text{Fe}^{3+}$
$\text{K}_2\text{CrO}_4$	$\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Ba}^{2+}$

## 光度滴定

溶液吸光度的变化可用于跟踪滴定过程中吸收辐射组分浓度的变化<sup>[18]</sup>。吸光度与吸光组分的浓度成正比。以吸光度对滴定剂作图，如果反应完全，两条直线的交点即为滴定终点。如果反应稍不完全，将滴定曲线两直线段外推，交点即为滴定终点。

光度滴定较直接光度测定有许多优点。在测定波长处其他吸收组分的存在不一定干扰测定，因为只有吸光度的变化才有意义。但是如果非滴定组分的吸光度很强，读数会移至吸收刻度不符合要求的上限。理想状况下，在反应物、滴定剂和反应产物中，应仅有单一的吸收物存在。

测定波长应选择避开其他吸收物的干扰。而且在滴定过程中吸收值的变化要落在合适的范围之内。常将波长选在距最大吸收波长适当位置处。

### 1. 滴定曲线

加入滴定剂所引起的体积变化很难忽略，只有对稀释进行校正滴定曲线才是直线。

如果不进行校正，滴定曲线沿着体积轴向下弯曲，获得错误的交叉点，理想状态是使用微量注射器和相对较浓的滴定液。

光度滴定曲线的可能形状如图 15 所示，曲线 A 代表仅有滴定液有 (无) 吸收，光度值读取滴定剂吸收波长处；曲线 B 表示反应产物有 (无) 吸收；曲线 C 代表被测物转化为无吸光度产物；当有色被测物被有色滴定剂滴定生成无色产物时，曲线形状同 D。

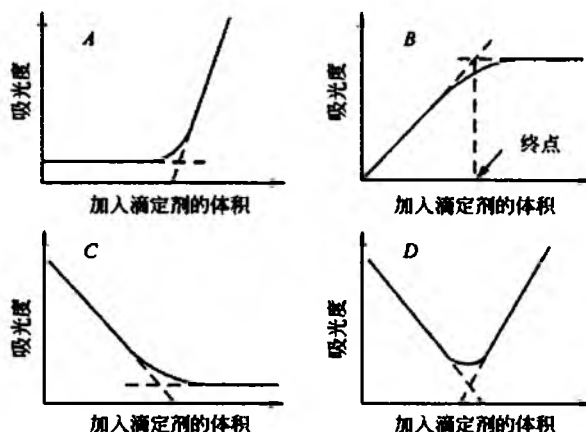


图 15 光度滴定曲线的不同类型

### 2. 应用

特殊的应用领域是，当溶液太稀以致指示剂空白过大，或可能由于等当点附近反应不完全或样品中存在外来有色物质时颜色变化不明显。无论溶液的离子强度是高还是低，甚至非水溶液中滴定均很容易进行。通过简单地改变波长或吸收池光路长度，很容易改变测量的灵敏度，这也是光度滴定引人注目的一个特点。对于缺乏自身指示的滴定系统，可以使用指示剂。

### 参考文献

- Grant, J. Sutton's Volumetric Analysis, 13th Ed.; Butterworth's Scientific Publications; London, 1955; 28—29.
- Skoog, D. A.; West, D. M. Fundamentals of Analytical Chemistry, 2nd Ed.; Holt, Rinehart, Wileson; London, 1972; 225.
- Skoog, D. A.; West, D. M. Fundamentals of Analytical Chemistry, 2nd Ed.; Holt, Rinehart, Winston; London, 1972; 226—227.
- Laitinen, H. A. Chemical Analysis; McGraw-Hill; New York, 1960; 37.
- Grant, J. Sutton's Volumetric Analysis, 13th Ed.; Butterworth's Scientific Publications; London, 1955; 140.
- Mitchell, J. Anal. Chem. 1951, 23, 1069.
- Meites, L. Handbook of Analytical Chemistry; McGraw-Hill; New York, 1963; 3—226.
- Reilley, C. N.; Barnard, A. J., Jr. Handbook of Analytical Chemistry; McGraw-Hill; New York, 1963; 3—166 to 3—200.
- Gran, G. Acta Chem. Scand. 1950, 4, 559.
- Gran, G. Analyst 1952, 77, 661.
- Reilley, C. N.; Schmid, R. W. Anal. Chem. 1958, 30, 947.

D

12. Reilley, C. N.; Schmid, R. W.; Lamson, D. W. *Anal. Chem.* 1958, 30, 953.
13. Foreman, J. K.; Stockwell, P. *Automatic Chemical Analysis*; Wiley, New York, 1975; 42—62.
14. Shadlovsky, T.; Weissberger, A. *Physical Methods of Organic Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed.; Interscience; New York, 1960; 1, 3011—3048.
15. Clem, R. G. *Ind. Research* 1973, (September), 50.
16. Skoog, D. A.; West, D. M. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 4th Ed.; Holt, Rinehart, Winston; Hong Kong, 1986; 443—444.
17. Lingane, J. J. *Electroanalytical Chemistry*; Interscience; New York, 1958; 280—294.
18. Goddu, R. F.; Hume, D. N. *Anal. Chem.* 1954, 26, 1679.
19. Headridge, J. B. *Photometric Titrations*; Pergamon Press; New York, 1961.
20. Laitinen, H. A.; Harris, W. E. *Chemical Analysis*, 2nd Ed.; McGraw-Hill; New York, 1975.
21. Lingane, J. J. *Electroanalytical Chemistry*; Interscience; New York, 1958.
22. Ma, T. S.; Hassan, S. S. M. *Organic Analysis Using Ion-Selective Electrodes*; Academic Press; London, 1982; 1, 2.
23. Rechnitz, G. A. *Bioanalysis with Potentiometric Membrane Electrodes*. *Anal. Chem.* 1982, 54, 1194A.
24. Serjeant, E. P. *Potentiometry and Potentiometric Titrations*; John Wiley, New York, 1984.
25. Svehla, G. *Automatic Potentiometric Titrators*; Pergamon Press; New York, 1978.

(杜明译)

# 淀粉及其衍生物

Ann W. Newman

SSCI, Inc., West Lafayette, Indiana, U. S. A.

Ronald L. Mueller

GlaxoSmithKline, King of Prussia, Pennsylvania, U. S. A.

Imre M. Vitez

Chris C. Klesnowski

Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, New Brunswick, New Jersey, U. S. A.

## 引言

淀粉因其崩解性和黏合性，是制药工业应用最广的药用辅料之一。有大量不同来源的淀粉可供使用，其中以玉米淀粉最为普遍。现概述一下淀粉、淀粉衍生物及其在制药工业中的应用。

## 概况

### 1. 分子结构

淀粉是一种聚合物，分子式为  $(C_6H_{10}O_5)_n$ ，其中  $n$  为 300~1000。普通淀粉包括两种 D-葡萄糖聚合物，分别是直链淀粉和支链淀粉。直链淀粉是以 (1→4) 苷键连接的  $\alpha$ -D-葡萄糖线形聚合物，见图 1 (a)。这些大分子由 100 或者 100 以上的葡萄糖单元组成。支链淀粉是由  $\alpha$ -D-葡萄糖聚合而成的分支状淀粉，其直链部分也为 (1→4) 苷键，而分支处则为 (1→6) 苷键，见图 1 (b)。支链淀粉大约是直链淀粉的 3 倍甚至更多。大多数天然淀粉中，直链淀粉约占 30%，但是，特殊的淀粉及其性质是由其中每一种聚合物分子的大小和数量决定的。聚合物分子之间的引力形成淀粉颗粒。直链部分有结合成胶束的趋势，能将大分子结合成有序结构。有人已经提出这种结构的模型<sup>[1]</sup>，并且知道这种结构是刚性的，不溶于水。

### 2. 淀粉类型

淀粉可以从大量的天然来源中获得，包括表 1 中所列<sup>[2]</sup>。人们已经从植物的不同部位发现了淀粉，一些提取方法也应用于分离该物质。虽然进行了其他类型的淀粉的研究，但是药用淀粉中最主要的还是玉米淀粉<sup>[3~6]</sup>。

制备淀粉最普遍的方法是湿法研磨，当然也有干法研磨。研磨、分离、浓缩、干燥等一系列步骤制得淀粉颗粒的混悬液<sup>[7]</sup>。经过处理的玉米淀粉为略带淡黄色的白色粉末，需要漂白来获得纯白色粉末。

制药工业中采取许多方法对淀粉进行修饰。通过化学方法或机械方式得到的预胶化淀粉或可压性淀粉在水中全

部或部分降解，然后进行干燥得到一种辅料适合于制备可直接压制的制剂。灭菌玉米淀粉含有氧化镁（不超过 2.2%），为了防止暴露在湿气或蒸汽灭菌环境下发生胶凝化，一般要经过化学或物理方法预处理。当马铃薯或玉米淀粉用化学方法处理来破坏其胶凝能力后，就可以得到可溶性淀粉。

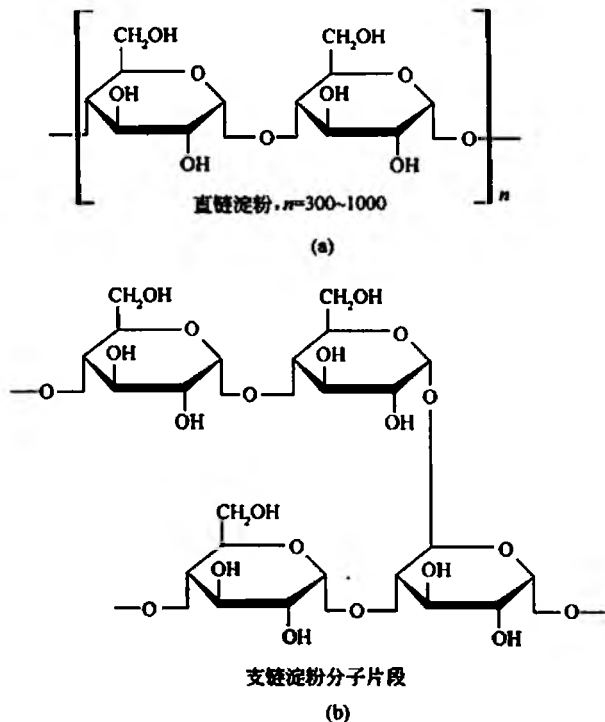


图 1 线形直链淀粉分子 (a) 和支链淀粉分子片段 (b)

### 3. 一般性质

淀粉为白色细粉末，无臭无味，由极细小的球形或椭圆形颗粒组成。淀粉的植物来源决定了淀粉颗粒的形状和大小，表 1 概括了这些特征。淀粉不溶于乙醇，大部分溶于冷水。但是碱性溶剂会降解淀粉及其多糖部分。除了  $\alpha$ -淀粉酶和戊基葡萄糖苷酶，淀粉对其他酶相对耐受。

表1 各种淀粉的来源和性质<sup>[2]</sup>

淀粉类型	来源	颗粒形状	颗粒大小/ $\mu\text{m}$
玉米	种子	圆形或多边形	5~25
木薯	根	圆形或椭圆形	2~25
马铃薯	根	蛋形	15~100
小麦	种子	圆形或椭圆形	2~10 或 20~35
西米	茎	椭圆形或蛋形	20~60
竹芋	根	椭圆形	15~70
大米	种子	多边形	3~8
大麦	种子	圆形或椭圆形	2~6 或 20~35
高粱	种子	圆形或多边形	6~30
甘薯	根	多边形	10~25
黄玉米	种子	圆形或多边形	5~25

当淀粉混悬在水中,加热至一临界温度时称为胶化温度,此时水渗入颗粒,淀粉量膨胀形成糊状。随着温度上升,维持胶束结构单元和水分子在聚集状态的氢键断裂,解离的水分子能渗透进已经变弱的淀粉结构中,逐渐沿着淀粉分子长链与羟基基团发生水合。淀粉胶化温度因品种而异,但一般为65~75℃<sup>[2]</sup>。由于胶化的进行,淀粉颗粒丧失了其特征形状。

淀粉与碘的反应是检验淀粉的一般方法。碘稀溶液能使淀粉显蓝色至紫红色。人们认为直链淀粉部分通过形成螺旋与碘结合<sup>[7]</sup>。这一蓝色显色反应在不同系统中作为淀粉定性定量检测的方法。

美国国家处方集<sup>[8]</sup>记载了很多有关淀粉的分析方法,包括植物学特征、鉴别、微生物学检查、pH、干燥失重(LOD)、炽灼残渣(ROI)、铁、氧化物、二氧化硫及有机挥发性杂质。

## 物理性质

### 1. 结构信息

淀粉是一种半结晶聚合物,线形的直链分子本质上是无定形的,但分支状的支链淀粉据报道是部分结晶的。淀粉颗粒中的结晶区域散布在连续的无定形相中<sup>[1,9,10]</sup>。

X射线衍射研究表明淀粉中存在3种晶型,分别标记为A、B、C<sup>[10]</sup>。晶型种类取决于淀粉的植物来源。A型存在于谷类淀粉中,B型为根、果实和茎淀粉的特征,C型介于A型和B型之间,表现为A、B晶型的混合物。A型一般见于玉米淀粉。

对A型的晶型部分进行单晶X射线衍射获得的数据已有报道,检晶仪的数据总结于表2<sup>[11]</sup>。单位细胞含有12个葡萄糖残基,位于2个左手边,平行束缚的双螺旋以平行模式充满。4个水分子位于这些螺旋之间。据报道,B型淀粉也含有以双螺旋排列的链<sup>[12]</sup>。目前已被接受的六边形单位细胞的尺寸列于表2中。A型与B型的结构差异表现在组成链的晶体和水分含量。

表2 A型和B型淀粉的检晶仪数据<sup>[11,12]</sup>

性质	A型 <sup>[11]</sup>	B型 <sup>[12]</sup>
晶格	单斜晶	六边形
$a/\text{nm}$	2.124	1.85
$b/\text{nm}$	1.172	1.85
$c/\text{nm}$	1.069	1.04
$\alpha/^\circ$	90	90
$\beta/^\circ$	90	90
$\gamma/^\circ$	123.5	120
空间组	B2	—
相对密度	1.48	—
体积	2.218nm <sup>3</sup>	—

散射(DR)、红外(IR)、拉曼,固态<sup>13</sup>C交叉偏正/磁角自转(CP/MAS)核磁共振(NMR)光谱等,可用于未修饰和预胶化的玉米淀粉<sup>[13,14]</sup>。对于不同淀粉样品的光谱差别不是很明显。对于直链淀粉和模型化合物,也进行了溶液相、<sup>1</sup>H-NMR研究<sup>[15]</sup>。光谱和分子间氢键提示在沿着直链淀粉链有同样的构造。

### 2. 热学性质

热分析方法同样用来研究淀粉的结构。有人研究了淀粉中结晶部分而导致的吸热熔化<sup>[16]</sup>。但是并不是能在所有的样品中均能分辨,因为样品中只有少量的结晶物。这种转变同样取决于样品的制备和材料的湿度。有人报道熔点为168~210℃<sup>[16,17]</sup>。

利用差示扫描量热分析(DSC)测量淀粉的玻璃化转变温度( $T_g$ ),发现 $T_g$ 取决于制剂的湿度,温度范围在22~130℃<sup>[18]</sup>。DSC研究淀粉胶化表明在选择条件下,浓缩的淀粉/水混悬液具有良好的吸热性,将其进行积分可以得到不同淀粉的胶化热<sup>[19]</sup>。

### 3. 显微镜法

大量关于淀粉显微镜研究的优秀综述已经发表<sup>[2,20~23]</sup>。正如在表1中总结的,淀粉颗粒形状和大小是植物来源的特征表现,可以用来鉴定。据报道,在马铃薯和木薯中发现的粉状淀粉往往更大,形状更规则(圆形、椭圆形或卵圆形)。角状淀粉,如玉米和大米淀粉,通常描述成多边形,这是由于麦(谷)粒中的颗粒紧密包裹造成的。图2给出了一个未经修饰的玉米淀粉例子。发现淀粉是单个的颗粒,但是也观察到聚集体,这是因干燥造成的。干燥过程中过高的热量和湿度导致淀粉颗粒表面轻微胶化,促使颗粒黏附在一起形成聚集体。预胶化淀粉表现出完全不同的形态结构,见图3。粒子是不规则的,淀粉颗粒并不像预胶化过程期望的那么明显。

用偏振光观察未经修饰的淀粉颗粒时,可见两条暗线形成十字或V形(图4)。这种交叉形状有利于鉴定淀粉的类型。这种特征的解释之一是颗粒的密度和湿度分布不是均匀的<sup>[2]</sup>。随着颗粒干燥,颗粒内形成应力,导致在偏振光下观察到明亮



区域。当淀粉膨胀或胶化, 偏光显微镜下交叉看不到。

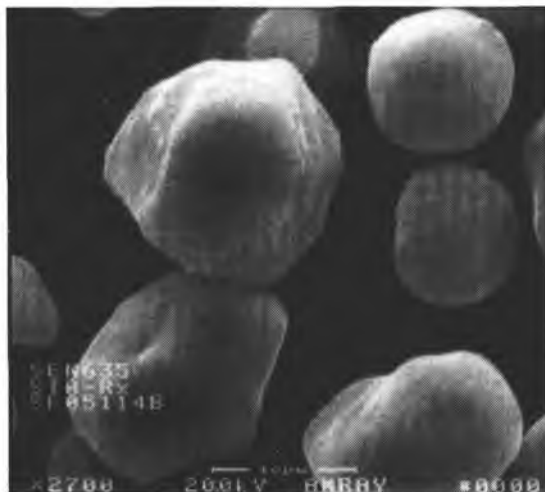


图2 未经修饰的玉米淀粉电镜扫描图(放大2700倍)

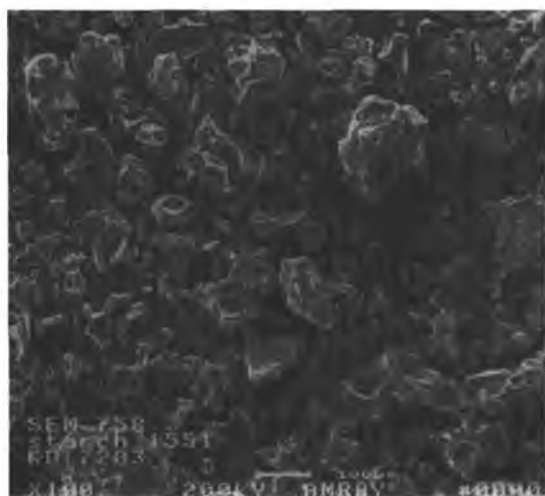


图3 预胶化淀粉的电镜扫描图(放大100倍)



图4 交叉偏光器下未经修饰的玉米淀粉光学显微镜图(放大400倍)

#### 4. 微晶学性质

微晶学性质, 例如粒子大小、表面积、密度和流动性能影响淀粉的崩解、加工和压片性质。许多测量不同淀粉粒子大小的方法已有应用。对于堆粉末分析, 可以采用过筛来处理大量材料。另外一种测定粒子大小的方法是光学显微镜, 它可以直接给出单个粒子的大小<sup>[14,24,25]</sup>。激光散射分析也可用来测定干燥粒子和混悬液的体积<sup>[26]</sup>。这种分析方法依赖于所选模型, 对混悬剂样品可以获得更好的重现性。空气渗透<sup>[27]</sup>或氮吸附<sup>[14]</sup>可用来测量淀粉表面积。有人报道相对较小的表面积为 $0.1\sim 0.5\text{m}^2/\text{g}$ 。

堆粉末特征在理解辅料的加工性质或颗粒化产品上有重要意义。Carr<sup>[28,29]</sup>引入了一种分类系统来评价粉末的流动性。定义可流动粉末为自由流动、趋势稳定和均匀, 反之, 涌流粉末为不稳定、不连续的涌出状流动。对淀粉的堆粉末<sup>[14,30]</sup>性质和淀粉颗粒<sup>[31,32]</sup>进行了大量研究, 发现淀粉显示较差的模糊的流动性。

#### 5. 吸湿性

淀粉被划分为中等吸湿性的材料<sup>[33]</sup>。有人利用静态方法(密闭容器内的饱和盐溶液)<sup>[33~35]</sup>、经过改进的反相前沿气相色谱法<sup>[36]</sup>和自动湿度平衡系统<sup>[14]</sup>进行了水吸收研究。如图5所示, 等温线为典型的Ⅱ型曲线, 表现出滞后现象。淀粉样品的滞后现象是由于分子间和分子内水的氢键与淀粉分子的羟基基团结合<sup>[33,37]</sup>。水合作用和膨胀作用的程度取决于淀粉中羟基基团与水的接触程度, 有人认为其中无定形区域的存在是淀粉在水中可逆性膨胀作用的原因<sup>[9,37]</sup>。

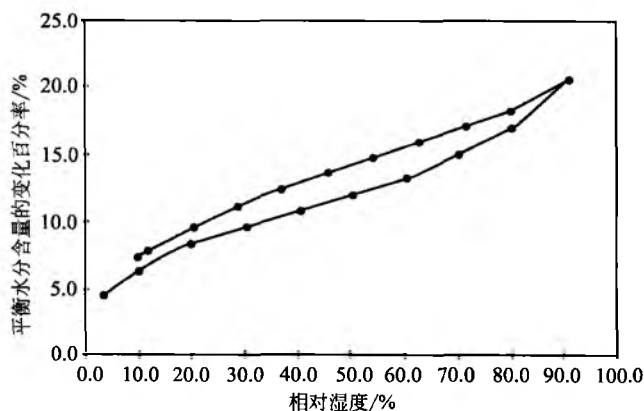


图5 未修饰玉米淀粉的湿度等温线

### 使用和用途

淀粉被广泛应用于制药工业, 因为它具有许多独特的优点。如易得, 价格低廉, 白色及惰性。利用热分析方法对淀粉和不同活性药物的相容性进行了研究。例如, 通过辅料筛选方法发现淀粉与头孢氨苄<sup>[38]</sup>和乙酰半胱氨酸<sup>[39]</sup>能

够相容。

淀粉可作为片剂/胶囊剂的稀释剂、片剂崩解剂和助流剂。淀粉的作用取决于加入处方的方式。在加入润滑剂之前以干粉加入，为崩解剂；在与其他辅料制粒前加入，无论干湿，通常作为黏合剂和崩解剂。有人曾报道淀粉在压制过程中变形主要是塑形流动，但发现这一点取决于颗粒大小、体积分布和颗粒形状<sup>[40]</sup>。

淀粉在许多药物制剂中作为崩解剂。对其崩解性质最普遍的解释是淀粉遇水颗粒发生膨胀。有人提出直链淀粉的膨胀是淀粉崩解性质的主要原因；第二个机制则认为片剂中淀粉的崩解作用是由于毛细管作用而不是膨胀作用；第三个机制是基于片剂遇水后各组分间粒子粒子相互斥力和淀粉的亲水性<sup>[41]</sup>。

淀粉在制剂中的许多新应用已见报道。通过酶降解后胶凝得到的一种新的淀粉产品，具有线性、短链、表面积大等特点，可用于直接压制的控释给药系统<sup>[6]</sup>。布洛芬-淀粉颗粒与羟丙基纤维素的组合品被用来生产布洛芬的控释制剂<sup>[42]</sup>。有人用胶凝作用和冻干来生产冷水膨胀淀粉，以及作为骨架型辅料用在缓释片上<sup>[43]</sup>。接枝淀粉微囊正在进行研究，以便能用于疫苗的口服给药来防止其降解<sup>[44]</sup>。

## 淀粉衍生物

未经修饰的淀粉已经证明是有效、廉价的崩解剂，然而需要相对较高的浓度，且流动性较差。淀粉主要的缺点在于当它崩解片剂有效时，在崩解组成片剂颗粒时效果较差。其他性质，如快速崩解，也是必需的，有人正在研究淀粉衍生物这种新材料。

淀粉能发生很多乙醇所特有的反应，因为结构中含有很多羟基基团。经过氧化作用、酯化作用、醚化作用或者水解作用，D-葡萄糖聚合物单元得以修饰。许多因素，例如植物来源、预处理（酸催化水解或糊精化）、直链淀粉与支链淀粉的比例或含量、相对分子质量分布或聚合度、衍生类型（酯化、醚化和氧化）、取代基的性质、物理形式（颗粒、预胶化的）等可以定义淀粉衍生化的结果<sup>[9,45]</sup>。

取代度（DS）是一个表征淀粉衍生物的普通方法，也是一种测量每个D-葡萄糖聚合物单元羟基基团平均数目的方法。它表示每一个D-葡萄糖聚合物单元的取代量。DS最大值为3，因为单元中有3个羟基基团可供取代。大部分市售衍生物DS值都小于0.2。当取代基团进一步与试剂反应形成聚合取代物时，采用摩尔取代值。定义为取代水平，根据1mol D-葡萄糖聚合物单元中单节的摩尔数（在聚合取代中）来计量，数值可以大于3。

### 1. 羧甲基淀粉钠

羧甲基淀粉钠是聚 $\alpha$ -葡萄糖的钠盐，其中一些羟基发生羧甲基化（图6）。淀粉在碱存在下与一氯乙酸钠发生羧甲基化，反应所用的碱用酸中和。用物理或化学的方法实现交联。一般来自马铃薯淀粉的羧甲基淀粉钠市场上称为

Explotab 和 Primojel，用作片剂和胶囊剂的崩解剂，与其他各种淀粉相比，具有更好的崩解性质<sup>[27]</sup>。由不同淀粉（马铃薯、玉米、小麦、大米、西米、木薯等）制得的羧甲基淀粉钠表现出崩解效率的不同，崩解效率与DS、交联及纯度有关<sup>[46,47]</sup>。

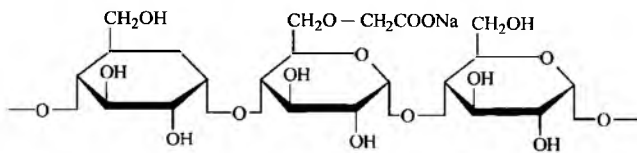


图6 羧甲基淀粉钠的分子结构

市售羧甲基淀粉钠为白色至类白色的粉末，无臭无味。羧甲基淀粉钠为无定形物，玻璃化转变温度  $T_g$  128~156℃，取决于样品的湿度含量<sup>[33]</sup>。当相对湿度大于50%时其有较大吸湿性，需要密闭保存，防止结块。羧甲基淀粉钠颗粒呈椭圆形或球形，直径30~100 $\mu$ m。测试证明本品流动性好，能使制剂具有良好的机械性质<sup>[30]</sup>。

### 2. 麦芽糊精

麦芽糊精是由玉米淀粉通过酸化或者酶控制水解（解聚作用）制备的碳水化合物。D-葡萄糖单元主要是由 $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) 苷键连接，也有通过 $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) 苷键连接的分支片断，见图7。这些物质的物理性质由淀粉水解的程度决定，以右旋糖等价物（D.E.）值表达。D.E. 值定义为还原糖的量，即每100g干燥品中D-葡萄糖的克数。D.E. 值高说明麦芽糊精聚合度低。

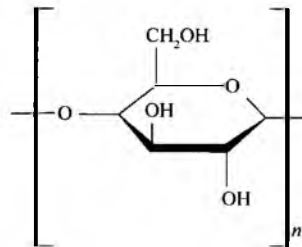


图7 麦芽糊精分子

麦芽糊精为无定形，白色或类白色粉末或颗粒，无臭无味。通过喷雾干燥、流化床聚集、干法制粒的方法来提高其加工性质。麦芽糊精在相对湿度大于50%时有引湿性，需要置于密闭容器中在低于此相对湿度的环境下储存。当储存的相对湿度大于75%时，糊精粉末开始胶化。麦芽糊精的吸湿性与D.E. 值成正相关。

麦芽糊精在药剂学中可作为包衣材料、片剂和胶囊剂的稀释剂、片剂的黏合剂、及增黏剂。本品可作为直接压片辅料，并且发现具有与其他直接压片辅料相似的压制性质<sup>[48]</sup>。关于聚合度和可压性的研究表明片剂性质，诸如密度和张力，与麦芽糊精的聚合度和水分含量有关<sup>[49]</sup>。骨架型小丸利用微晶蜡、麦芽糊精和各种黏合剂制备了缓释和速释剂型<sup>[50]</sup>。

## 小结

淀粉及其衍生物在制药工业中有着重要的作用。不同的淀粉来源、淀粉修饰物和淀粉衍生物为我们提供了一系列药用材料。可以对这些材料的各种性质进行研究,以供特殊的处方应用。

## 参考文献

- Lineback, D. R. Current Concepts of Starch Structure and Its Impact on Properties. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.* 1986, 33 (1), 80—88.
- Kerr, R. W., Ed. *Chemistry and Industry of Starch*; Academic Press; New York, 1950.
- Gadalla, M. A. F.; Abd El-Hameed, M. H.; Ismail, A. A. A Comparative Evaluation of Some Starches as Disintegrants for Double Compressed Tablets. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 1989, 15 (3), 427—446.
- Mitrevej, A.; Sinchaipanid, N.; Faroongsarn, D. Spray-Dried Rice Starch; Comparative Evaluation of Direct Compression Fillers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1996, 22 (7), 587—594.
- Gebre-Mariam, T.; Schmidt, P. C. Characterization of Enset Starch and Its Use as a Binder and Disintegrant for Tablets. *Pharmazie* 1996, 51 (5), 303—311.
- Te Wierik, G. H. P.; Eissens, A. C.; Bergsma, J.; Arends-Scholte, A. W.; Bolhuis, G. K. A New Generation Starch Product as Excipient in Pharmaceutical Tablets. III. Parameters Affecting Controlled Drug Release from Tablets Based on High Surface Area Retrograded Pregelatinized Potato Starch. *Int. J. Pharm.* 1997, 157, 181—187.
- Whistler, R. L.; Daniel, J. R. *Starch*. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*; Grayson, M., Ed.; 3<sup>rd</sup> Ed.; John Wiley & Sons; New York, 1983; 21, 492—507.
- The National Formulary. NF 19 United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville MD, 2000; 2524—2525.
- French, A. D.; Starch; *Chemistry and Technology*; Whistler, R. L., BeMiller, J. N., Paschall, E. F., Eds.; 2<sup>nd</sup> Ed.; Academic Press; New York, 1984; 183—247.
- Banks, W.; Greenwood, C. T. *Starch and Its Components*; John Wiley & Sons; New York, 1975.
- Imberty, A.; Chanzy, H.; Perez, S. The Double-Helical Nature of the Crystalline Part of A-Starch. *J. Mol. Biol.* 1988, 201, 365—378.
- Imberty, A.; Buleon, A.; Tran, V.; Perez, S. Recent Advances in Knowledge of Starch Structure. *Stärke* 1991, 43 (10), 375—384.
- Bugay, D. E.; Findlay, W. P. *Pharmaceutical Excipients*; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1999.
- Newman, A. W.; Mueller, R. L.; Vitez, I. M.; Kiesnowski, C. C.; Bugay, D. E.; Findlay, W. P.; Rodriguez, C. *Starch. Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*; Brittain, H. G., Ed.; Academic Press; New York, 1996; 24, 523—577.
- St-Jacques, M.; Sundararajan, P. R.; Taylor, K. J.; Marchessault, R. H. Nuclear Magnetic Resonance and Conformational Studies on Amylose and Model Compounds in Dimethyl Sulfoxide Solution. *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98 (15), 4386—4391.
- Donovan, J. W. Phase Transitions of the Starch-Water System. *Biopolymers* 1979, 18, 263—265.
- Lelievre, J. Starch Gelatinization. *J. Appl. Polym. Sci.* 1973, 18, 293—296.
- Zeleznek, K. J.; Hoseney, R. C. The Glass Transition in Starch. *Cereal Chem.* 1987, 64 (2), 121—124.
- Stevens, D. J.; Elton, G. A. H. Thermal Properties of the Starch/Water System Part 1. Measurement of the Heat of Gelatinisation by Differential Scanning Calorimetry. *Stärke* 1971, 23 (1), 8—11.
- Sjostrom, O. A. Microscopy of Starches and Their Modifications. *Ind. Eng. Chem.* 1936, 28 (1), 63—74.
- Moss, G. E. *The Microscopy of Starch. Examination and Analysis of Starch and Starch Products*; Radley, J. A., Ed.; Applied Science Publishers, Ltd.; London, 1976; 1—32.
- Schoch, T. J.; Maywald, E. C. *Industrial Microscopy of Starches*. *Starch; Chemistry and Technology*; Whistler, R. L., BeMiller, J. N., Paschall, E. F., Eds.; 2<sup>nd</sup> Ed.; Academic Press; New York, 1984; 637—647.
- Gallant, D. J. *Electron Microscopy of Starch and Starch Products. Examination and Analysis of Starch and Starch Products*; Radley, J. A., Ed.; Applied Science Publishers, Ltd.; London, 1976; 33—59.
- Paronen, P.; Juslin, M. Compressional Characteristics of Four Starches. *J. Pharm. Pharmacol.* 1983, 35, 627—635.
- Juslin, M.; Kahela, P.; Paronen, P.; Turakka, L. Comparative Evaluation of Starches as Tablet Adjuvants. *Acta. Pharm. Fenn.* 1981, 90, 83—93.
- Merkku, P.; Yliruusi, J.; Kristoffersson, E. Particle Size Determination of Some Pharmaceutical Fillers by Laser Light Diffraction Part II. *Acta Pharm. Nord.* 1992, 4 (4), 265—270.
- Smallenbroek, A. J.; Bolhuis, G. K.; Lerk, C. F. The Effect of Particle Size of Disintegrants on the Disintegration of Tablets. *Pharm. Weekblad.* 1981, 116, 1048—1051.
- Carr, R. L. Evaluating Flow Properties of Solids.

- Chem. Eng. 1965, 72, 163—168.
29. Carr, R. L. Classifying Flow Properties of Solids. Chem. Eng. 1965, 73, 69—72.
30. Vennat, B.; Gross, S.; Pourrat, A.; Pourrat, H. Tablets of Hamamelis Dry Extract by Direct Compression: Comparative Study of Natural Starches and Starch Derivatives. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19 (11), 1357—1368.
31. Kottke, M. K.; Chueh, H.-R.; Rhodes, C. T. Comparison of Disintegrant and Binder Activity of Three Corn Starch Products. Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18 (20), 2207—2223.
32. Nasipuri, R. N.; Kuforiji, F. O. Effect of Granule Size of Starch as a Direct Compression Carrier on the Physical Properties of Chlorpheniramine Tablets. Pharm. Ind. 1981, 43 (10), 1037—1041.
33. Faroongsang, D.; Peck, G. E. The Swelling and Water Uptake of Tablets III: Moisture Sorption Behavior of Tablet Disintegrants. Drug Dev. Ind. Pharm. 1994, 20 (5), 779—798.
34. Sair, L.; Fetzer, W. R. Water Sorption by Starches. Ind. Eng. Chem. 1944, 36, 205—208.
35. Malamataris, S.; Goidas, P.; Dimiriou, A. Moisture Sorption and Tensile Strength of Some Tableted Direct Compression Excipients. Int. J. Pharm. 1991, 68, 51—60.
36. Paik, S. W.; Gilbert, S. G. Water Sorption Isotherms on Sucrose and Starch by Modified Inverse Frontal Gas Chromatography. J. Chromatogr. 1986, 351, 417—423.
37. Das, B.; Sethi, R. K.; Chopra, S. L. Sorption and Desorption of Water Vapour on Starch. Isr. J. Chem. 1972, 10, 963—965.
38. El-Shattawy, H. H.; Kildsig, S. O.; Peck, G. E. Cephalexin-Direct Compression Excipients: Formulation Stability Screening Using Differential Scanning Calorimetry. Drug Dev. Ind. Pharm. 1982, 8 (6), 897—909.
39. Kerc, J.; Srcic, S.; Urleb, U.; Kanalec, A.; Kofler, B.; Smid-Korbar, J. Compatibility Study Between Acetylcysteine and Some Commonly Used Tablet Excipients. J. Pharm. Pharmacol. 1992, 44, 515—518.
40. McKenna, A.; McCafferty, D. F. Effect of Particle Size on the Compaction Mechanism and Tensile Strength of Tablets. J. Pharm. Pharmacol. 1982, 34, 347—351.
41. Guyot-Hermann, A. M. Disintegration Mechanisms of Tablets Containing Starches. Hypothesis About the Particle-Particle Repulsive Force. Drug Dev. Ind. Pharm. 1981, 7 (2), 155—177.
42. Palmieri, G. F.; Lovato, D.; Martelli, S. New Controlled-Release Ibuprofen Tablets. Drug Dev. Ind. Pharm. 1999, 25 (5), 671—677.
43. Sanchez, L.; Torrado, S.; Lastres, J. L. Gelatinized/Freeze-Dried Starch as Excipient in Sustained Release Tablets. Int. J. Pharm. 1995, 115, 201—208.
44. Singh, M.; O'Hagan, D. The Preparation and Characterization of Polymeric Antigen Delivery Systems for Oral Administration. Adv. Drug. Delivery Rev. 1998, 34, 285—304.
45. Wurzburg, O. B. Starch in the Food Industry. Handbook of Food Additives; Furia, T. E., Ed.; The Chemical Rubber Company; Boca Raton FL, 1972, 1, 361—395.
46. Bolhuis, G. K.; Arends-Scholte, A. W.; Stuut, G. J.; de Vries, J. A. Disintegration Efficiency of Sodium Starch Glycolates, Prepared from Different Native Starches. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1994, 40 (5), 317—320.
47. Gebre-Mariam, T.; Winnemoller, M.; Schmidt, P. C. An Evaluation of the Disintegration Efficiency of a Sodium Starch Glycolate Prepared from Enset Starch in Compressed Tablets. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1996, 43 (2), 124—132.
48. Parrott, E. L. Comparative Evaluation of a New Direct Compression Excipient, Soludex™ 15. Drug Dev. Ind. Pharm. 1989, 15, 561—583.
49. Li, L. C.; Peck, G. E. The Effect of Moisture Content on the Compression Properties of Maltodextrins. J. Pharm. Pharmacol. 1990, 42, 272—275.
50. Zhou, F.; Vervaet, C.; Schelkens, M.; Lefebvre, R.; Remon, J. P. Bioavailability of Ibuprofen from Matrix Pellets Based on the Combination of Waxes and Starch Derivatives. Int. J. Pharm. 1998, 168, 79—84.

(战丹译)

# 电位分析

Karel Vytras

University of Pardubice, Pardubice, Czech Republic

## 引言

电位分析是一种电分析测量方法, 通过使用高阻抗电压计(在零电流时有效)测定由指示电极和合适的参比电极组成的电化学电池的平衡电位。指示电极的电位是溶液中特定组分浓度的函数。通过明智地选择电极材料可以增强对特定物质响应的选择性, 由此减小其他离子的干扰。该方法的浓度检测限可以达到  $0.1 \mu\text{mol/L}$  数量级, 在某些情况下甚至可以测定  $10 \text{ pmol/L}$  浓度的变化。

## 界面平衡

电位是将单位电荷从无穷远处的真空状态下转移至建立电位的位置所需的电功。如果该位置处在同一相(金属, 溶液等)中, 该电位被称为内电势, 以  $\phi$  表示。以电位势存在的离子的化学电位势被称为电化学势  $\tilde{\mu}$ , 见式(1):

$$\tilde{\mu} = \mu + zF\phi \quad (1)$$

式中:  $\mu$  为化学势;  $z$  为粒子所带电荷;  $F$  为法拉第常数 ( $96.487 \text{ C/mol}$ )。

当包含带电荷粒子的两相接触时, 接界面上就会出现电位差。研究电荷转移时有必要对接界面进行表述。如果系统处在平衡状态, 必须达到相同的电化学势。因此对于相1和相2中存在的荷电粒子  $i$ , 式(2)必须有效。

$$\tilde{\mu}_i(1) = \tilde{\mu}_i(2) \quad (2)$$

该式可以写作以标准化学势  $\mu_i^\circ$  及活度  $a_i$  表示的式(3):

$$\begin{aligned} \mu_i^\circ(1) + RT \ln a_i(1) + z_i F \phi(1) \\ = \mu_i^\circ(2) + RT \ln a_i(2) + z_i F \phi(2) \end{aligned} \quad (3)$$

式中:  $R$  为摩尔气体常量 ( $8.313 \text{ J/(K} \cdot \text{mol)}$ );  $T$  为热力学温度(以  $\text{K}$  为单位)。因此式(4)给出了界面电势差

$$\begin{aligned} \Delta\phi = \phi(2) - \phi(1) = [\mu_i^\circ(1) - \mu_i^\circ(2)] / \\ z_i F + RT / z_i F \ln [a_i(1) / a_i(2)] \end{aligned} \quad (4)$$

这就是所谓的 Galvani 电位差  $\Delta\phi$ 。

## 电极电势

式(4)给出的电位差不能直接测量, 而需要通过一个由两根电极(两者为第一和第二半电池)组成的电化学电池来测定。只有在这样的电化学电池中的电位差  $E$  才是可测量的, 见式(5)

$$E = \Delta\phi_{1st} - \Delta\phi_{2nd} \quad (5)$$

如果第二个半电池被作为参比池并且和其他的合并使

用, 式(5)中所有的电位差值都有相同的  $\Delta\phi_{2nd}$  值。该值根据传统被设定为零(可由移动坐标轴来获得)。  $\Delta\phi_{2nd} = 0$  的电极为标准氢电极, 在标准压力下,  $[p(\text{H}_2) = p^\circ = 1.013 \times 10^5 \text{ Pa}]$ , 标准氢电极中含有单位活度氢离子的溶液中插有铂黑片, 氢气不断拍打铂黑表面, 可以写为  $\text{Pt(s)} | \text{H}_2(\text{g}) | \text{H}^+(\text{aq})$ , 垂直线表明界面。测定电极电势的反应称为半电池反应,  $2\text{H}^+(\text{aq}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{g})$ 。根据习惯, 式(5)中的  $\Delta\phi_{1st}$  可以被  $E$  替代并被称为电极电势。同样式(4)中右边部分可被式(6)替代

$$E^\circ = [\mu_i^\circ(1) - \mu_i^\circ(2)] / z_i F \quad (6)$$

并被称为标准电极电势(表1中列出某些标准电极电势)。

金属(相1)插入电解质溶液(相2)中是最简单的半电池反应形式, 如  $\text{Zn(s)} | \text{Zn}^{2+}(\text{aq})$ 。电极和电解质组成了半电池或者说所谓的一级电极, 电极电势见式(7):

$$E = E^\circ(\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}) + RT / 2F \ln a(\text{Zn}^{2+}) \quad (7)$$

即能斯特方程。  $\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}$  可简略地表述半电池反应  $\text{Zn}^{2+}(\text{aq}) + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Zn(s)}$ ; 纯的固体锌中锌的活度即为单位活度。氢电极也可由以上表达推出式(8):

$$E = RT / 2F \ln [a(\text{H}^+)]^2 / p(\text{H}_{2,\text{rel}}) \quad (8)$$

式中:  $p(\text{H}_{2,\text{rel}}) = p(\text{H}_2) / p^\circ$  是氢气相对于标准压力的分压, 根据习惯,  $E^\circ(\text{H}^+/\text{H}_2) = 0$ 。因此式(8)又可写为式(9):

$$E = -0.05916 \text{ pH} - 0.05916 / 2 \log p(\text{H}_{2,\text{rel}}) \quad (9)$$

这是因为  $25^\circ\text{C}$  时  $RT / F \ln 10 = 0.05916 \text{ V}$ 。这样氢电极可作为  $\text{pH}$  电极使用(然而就分析而言, 与  $\text{pH}$  测定中占主导地位的玻璃电极相比它还是有非常明显的劣势)。

其他可作为  $\text{pH}$  电极使用的半电池是金属-金属氧化物电极。使用最为广泛的是锑-氧化锑电极, 可写作  $\text{Sb(s)} | \text{Sb}_2\text{O}_3(\text{s}) | \text{H}^+$  或  $\text{Sb(s)} | \text{Sb}_2\text{O}_3(\text{s}) | \text{OH}^-$ , 半电池反应为  $\text{Sb}_2\text{O}_3(\text{s}) + 6\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Sb(s)} + 3\text{H}_2\text{O}$  或  $\text{Sb}_2\text{O}_3(\text{s}) + 3\text{H}_2\text{O} + 6\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Sb(s)} + 6\text{OH}^-$ 。例如, 假定  $\text{Sb}$ 、 $\text{Sb}_2\text{O}_3$  和  $\text{H}_2\text{O}$  的活度都为单位活度, 电极电势可用式(10)表示:

$$E = E^\circ(\text{SbO/Sb}) - 0.05916 \text{ pH} \quad (10)$$

在其他电极容易被污染的情形下该电极适宜于测定, 但是其精度很差(经适当校正可达  $0.1 \text{ pH}$  单位), 通常被用于滴定中的  $\text{pH}$  指示器。然而类似基于贵金属的电极(如  $\text{Pd} | \text{PdO}$ ) 仍然在进一步的开发中。

所有电极都基于氧化和还原, 但氧化还原电极或“redox”电极的术语通常只作备用, 用于溶液中某些离子存在两种氧化态。这类电极表述为  $\text{M(s)} | \text{Ox, Red}$ ,  $\text{M}$  为电子载体的惰性金属(通常为铂), 与溶液保持电接触。半电

池平衡既可以是简单的(如  $\text{Fe}^{3+} + e \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$ ),也可以受到其他离子影响(如  $\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5e \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$ )。相应的电极电势可分别表述为式(11):

$$E = E^\circ(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}) + RT/F \ln a(\text{Fe}^{3+})/a(\text{Fe}^{2+}) \quad (11)$$

或式(12):

$$E = E^\circ(\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}) + RT/5F \ln a(\text{H}^+)^8 a(\text{MnO}_4^-)/a(\text{Mn}^{2+}) \quad (12)$$

在第二种情况下,式(12)的表述可分离为

$$E^\circ = E^\circ(\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}) + 8RT/5F \ln a(\text{H}^+) \quad (13)$$

该式说明了形式的氧化还原电势及其 pH 依赖性。

## 参比电极

难溶盐电极(也称为二级电极)由金属表面覆盖一层多孔的该金属难溶盐组成,并整个浸入含有相应阴离子的溶液中。例如,以  $\text{Ag}(\text{s})|\text{AgCl}(\text{s})|\text{Cl}^-$  表述的银-氯化银电极,电极电势可由类似于式(7)的式子和难溶盐溶度积公式  $K_s(\text{AgCl}) = a(\text{Ag}^+) \cdot a(\text{Cl}^-)$  联合表述,见式(14):

$$E = E^\circ(\text{AgCl}/\text{Ag}) - RT/F \ln a(\text{Cl}^-) \quad (14)$$

半电池反应  $\text{AgCl}(\text{s}) + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + \text{Cl}^-$  的标准电极电势可表述为式(15):

$$E^\circ(\text{AgCl}/\text{Ag}) = E^\circ(\text{Ag}^+/\text{Ag}) + RT/F \ln K_s(\text{AgCl}) \quad (15)$$

在电位测定中,这些电极被作为参比半电池。以电位测定为目的,必须首先确保电位的稳定性,因此必须确保与之接触的溶液中阴离子活度的恒定。通常的写法是金属|难溶盐|内溶液:被测液,垂直虚线表示扩散界面。最普遍使用的参比电极是银-氯化银电极(由于其具有稳定和可重复的电势,低的温度滞后性,宽的温度适用范围,以及制备方便等优点;当其充满饱和 KCl 溶液时,25℃时的电位为 0.198V)和甘汞(或汞-氯化亚汞)电极(汞上面覆盖了一层 Hg 和  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  糊,与饱和 KCl 溶液接触时,25℃时的电位为 0.244V;传统甘汞电极的缺陷是其温度滞后性)。其他参比电极使用的频率较低。

Ross 参比电极与其他参比电极不同,是由铂丝浸没在三价碘离子和碘化物溶液中,铂电极对应于碘(三价碘离子)-碘离子对的氧化还原电位。溶液和样品被盐桥,也就是 3mol/L 氯化钾分隔开。

表 1 部分标准电极电势

半电池反应	$E^\circ/\text{V}$
$\text{Ag}^+ + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s})$	+0.799
$\text{AgBr}(\text{s}) + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + \text{Br}^-$	+0.073
$\text{AgCl}(\text{s}) + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + \text{Cl}^-$	+0.222
$\text{AgI}(\text{s}) + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + \text{I}^-$	-0.151
$\text{Bi}_2\text{O}_3(\text{s}) + 3\text{H}_2\text{O} + 6e \rightleftharpoons 2\text{Bi}(\text{s}) + 6\text{OH}^-$	-0.44
$\text{Br}_2(\text{l}) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+1.065
$\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6e \rightleftharpoons \text{Br}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.44
$\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ [quinone] + $2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ [hydroquinone]	+0.699
$\text{Ce}^{4+} + e \rightleftharpoons \text{Ce}^{3+}$	+1.70
$\text{Cl}_2(\text{g}) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$	+1.359
$\text{ClO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6e \rightleftharpoons \text{Cl}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.45
$\text{ClO}_4^- + 2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{ClO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	+1.19
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6e \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	+1.33
$\text{Cu}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{s})$	+0.337
$\text{Cu}^{2+} + e \rightleftharpoons \text{Cu}^+$	+0.153
$\text{Cu}^+ + e \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{s})$	+0.521
$\text{CuI}(\text{s}) + e \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{s}) + \text{I}^-$	-0.185
$\text{Fe}^{3+} + e \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+0.771
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + e \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	+0.36
$2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{g})$	0.000
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1.776

续表

半电池反应	$E^{\circ}/V$
$\text{Hg}_2^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Hg}(l)$	+0.788
$2\text{Hg}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+}$	+0.920
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(s) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + 2\text{Cl}^-$	+0.268
$\text{Hg}_2\text{SO}_4(s) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Hg}(l) + \text{SO}_4^{2-}$	+0.615
$\text{HNO}_2 + \text{H}^+ + e \rightleftharpoons \text{NO}(g) + \text{H}_2\text{O}$	+1.00
$\text{I}_3^- + 2e \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+0.536
$\text{IO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6e \rightleftharpoons \text{I}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+1.085
$\text{K}^+ + e \rightleftharpoons \text{K}(s)$	-2.925
$\text{MnO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1.23
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5e \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	+1.51
$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3e \rightleftharpoons \text{MnO}_2(s) + 2\text{H}_2\text{O}$	+1.695
$\text{MnO}_4^- + e \rightleftharpoons \text{MnO}_4^{\cdot -}$	+0.564
$\text{Na}^+ + e \rightleftharpoons \text{Na}(s)$	-2.714
$\text{NO}_3^- + 3\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{HNO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	+0.94
$\text{O}_2(g) + 4\text{H}^+ + 4e \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+1.229
$\text{O}_2(g) + 2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_2$	+0.682
$\text{O}_2(g) + \text{H}_2\text{O} + 4e \rightleftharpoons 4\text{OH}^-$	+0.401
$\text{O}_3(g) + 2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{O}_2(g) + \text{H}_2\text{O}$	+2.07
$\text{Pb}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Pb}(s)$	-0.126
$\text{PbO}_2(s) + 4\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{Pb}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+1.455
$\text{PbO}_2(s) + \text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{PbSO}_4(s) + 2\text{H}_2\text{O}$	+1.685
$\text{PbSO}_4(s) + 2e \rightleftharpoons \text{Pb}(s) + \text{SO}_4^{2-}$	-0.350
$\text{S}(s) + 2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S}(g)$	+0.141
$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{H}_2\text{SO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	+0.172
$\text{S}_2\text{O}_8^{2-} + 2e \rightleftharpoons 2\text{SO}_4^{2-}$	+2.01
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2e \rightleftharpoons 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0.08
$\text{Sb}_2\text{O}_3(s) + 6\text{H}^+ + 6e \rightleftharpoons 2\text{Sb}(s) + 3\text{H}_2\text{O}$	+0.152
$\text{Sn}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Sn}(s)$	-0.136
$\text{Sn}^{4+} + 2e \rightleftharpoons \text{Sn}^{2+}$	+0.154
$\text{Ti}^{3+} + e \rightleftharpoons \text{Ti}^{2+}$	-0.369
$\text{Tl}^{3+} + 2e \rightleftharpoons \text{Tl}^+$	+1.25
$\text{Tl}^+ + e \rightleftharpoons \text{Tl}(s)$	-0.336
$\text{TlCl}(s) + e \rightleftharpoons \text{Tl}(s) + \text{Cl}^-$	-0.557
$\text{UO}_2^{2+} + 4\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{U}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O}$	+0.334
$\text{Zn}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Zn}(s)$	-0.763

注: s=固体; l=液体; g=气体。

D

## D

## 液体连接

在电池中存在两种相互接触的不同电解质溶液,正如使用参比电极时,两种互溶的电解质溶液界面,即内参比电极溶液:被测液之间,有额外的电位差产生。正如前面提到的,垂直虚线在电池示意中表示界面并说明液接电势 $\Delta\phi_L$ 的来源。例如两种不同浓度的HCl溶液彼此接触时, $H^+$ 就会向更稀的溶液中扩散迁移。溶液中 $Cl^-$ 也会迁移最初比较缓慢,但也会导致连接电位差。然而在短暂的起始期后,电位值到达了不同离子扩散速率相同这样一个值。

通常而言,液体连接电位随着界面阳离子和阴离子淌度差的增加而增加。在理想状况下,所有离子都具有相同的淌度。这样的盐被称为迁移率相等的盐或者迁移率相等的混合物。正因为如此,KCl通常被用作参比电极的内电解质;1.8mol/L KCl+1.8mol/L  $KNO_3$ 的混合物最合适。尽管不知道确切数值,但是液接电势在一定限度范围内为常数,通常以恒定的补偿电压形式出现,包含在表观(或形式)标准电位 $E^0$ 中。如果 $H^+$ 和 $OH^-$ 都不参与界面溶液,那么液接电势通常不超过 $\pm 10mV$ 。在直接电位测定中,可以通过如下方式减小液接电位。可以使用有限扩散的参比电极(由多孔透水的隔膜分隔两种互溶的电解质),或者插入装有合适电解质溶液的盐桥,相当于使用含有两种有限扩散的多孔透水隔膜的双桥电解质的参比电极(所谓的双连接参比电极),例如, $Ag(s)|AgCl(s)|KCl||$ 桥电解质:被测液。在电池的示意中,双垂线表示液接电位已经去除的界面,例如, $Ag(s)|AgCl(s)|KCl||$ :被测液,等同于前面的示意式。

在参考文献[1]和[2]中有着重讨论这方面的电分析文章。

## 膜电极

包含有如上所述的一级和二级电极的电池所面临的困难是溶液中氧化物和还原物是否存在不止一组氧化还原反应,它们都对总的平衡电位有贡献,因而事实上是一个混合电位。这样的测定对于实际样品只有低的选择性。我们可以通过测定由特定材料制成的可以选择性参与离子交换平衡的膜的跨膜电位差来克服上述缺陷。

膜可以分隔介质1和介质2,形成一个三相体系(介质1/膜/介质2),因为膜可以作为独立的一相(M)。界面是两相间离子交换的几何屏障。就浸浴溶液与固体接触而言,用于电势电极的膜应尽可能是不相混溶的。它们通常由憎水性有机液体和固体或者低水溶性的无机固体制成。然而所有可用的膜都不是电绝缘体。多孔膜(有机液体和固体,合成的离子交换剂)吸附并被外溶剂如水所饱和。它们也允许两种离子强度不同的浸浴溶液中的水缓慢地从膜的一边穿越到另一边。但是也有很多膜不是多孔透水的,就膜的电位响应而言其溶剂的转移作用已经不是那么重要了。

有用的膜通常是固体或液体电解质,因为它们是部分或完全由离子化的酸、碱、盐或含有一定电位下可离子化的物质组成。这类膜的特性是其电荷位点的存在。膜界面两边同时进行的离子交换产生了膜电势 $\Delta\phi_M$ ,即被膜隔离的两相间的内电位差,可由式(16)表述

$$\Delta\phi_M = \phi(2) - \phi(1) \quad (16)$$

通常膜电势受三个因素影响:内外界面的电位差以及跨膜产生的液接电位差(尤其是膜为液膜时)。然而,以膜电极插入样品溶液为代表的Galvani半电池,通常由离子选择性膜,内电解质和内参比电极组成,如 $Ag|AgCl||$ 内电解质 $Cl^-$ , $Q^+||$ 对 $Q^+$ 选择性膜|被测液。这是常用的传感半电池的结构;另一半电池为外加参比电极。在实验观察含有膜电极的电池的电位时,很多因素可以视为常量:即内外参比电极的电位,内膜界面的电位差,以及至少在一时刻间跨膜形成的液接电位和外参比电极溶液:被测液间的电位差。

因此,离子选择性电极可以看成是电化学传感器,用以测量水溶液或混合溶剂中特定物质的活度或水中溶解气体的分压。但是,这些传感器除了响应被选择的*i*离子,还可能对样品中某些其他种类的离子作出响应;*j*离子的影响可以用Nikolskii-Eisenman方程表达,式(17):

$$E = \text{常数} + f(2.303RT/Z_i F) \log \{a_i + \sum k_{ij}^{pot} a_j^{Z_i/Z_j}\} \quad (17)$$

式中: $E$ 为离子选择性膜电极参与的电位测定用电池的电压,常数包括已述的电位常数; $f$ 为非能斯特响应的校正, $Z_i$ 和 $Z_j$ 分别为离子*i*和*j*所带的电荷; $k_{ij}^{pot}$ 为电位测定选择性系数。

需要强调的是,在过去的30多年里,采用离子选择性技术的分析方法正以不断增长的速率在发展,这方面的论述我们可以查阅其他一些文献,有些列在参考文献中<sup>[3~10]</sup>。

基于膜材料的不同,离子选择性电极可以分为下列几组。

## 1. 固体膜电极

固体膜电极包括可能由单晶组成,但大多数情况下是由原材料粉末化后加压形成的多晶小球组成的固体盐膜。这类固体交换剂对直接和迅速交换的样品产生响应,并影响直接交换的离子活度。例如,银盐电极被认为是无论对 $Ag^+$ 还是其他组成的阴离子都快响应的离子交换剂。 $Ag_2S$ 能固定基体混合物中更多的可溶性卤化物,在整个膜中产生电子导体和离子导体。该电极对其他能在膜表面形成难溶沉淀的离子也很敏感,尤其是沉淀的溶解度比膜材料还要低时。例如以 $AgCl$ 为基底的电极对溴化物和碘化物也有响应;汞(II)一直是很严重的干扰,因为 $HgS$ 比 $Ag_2S$ 难溶。同样的道理,含有 $HgS$ 的膜比 $Ag_2S$ 具有更低的检测限。其他一些例子,如测定氟离子的由 $LaF_3$ 组成的膜电极,测定卤化物或假卤化物( $CN^-$ ,  $SCN^-$ )的 $AgX + Ag_2S$ 或 $Hg_2X_2 + HgS$ ,测定银和硫化物的 $Ag_2S$ ,测定离子( $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ )的金属硫化物+ $Ag_2S$ ,测定铜



(II) 的  $\text{Cu}_2\text{Se} + \text{CuSe}$ 。

## 2. 玻璃电极

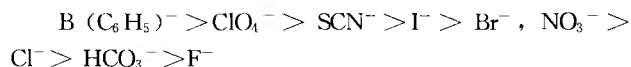
玻璃电极是由各种不同组成的玻璃<sup>[11]</sup>制成的最为古老和研究最为深入的离子选择电极。为了对 pH 作出响应, 玻璃膜的表面必须水化。水化伴随着这样的反应, 玻璃中的一价阳离子与溶液中的氢离子交换,  $\text{H}^+(\text{aq}) + \text{Na}^+(\text{glass}) \rightleftharpoons \text{Na}^+(\text{aq}) + \text{H}^+(\text{glass})$ 。玻璃的硅酸盐结构  $\cdots\text{Si}-\text{O}^-$  提供了阳离子交换的位点。经充分浸润的膜覆盖了一层厚度约为  $10^{-5} \sim 10^{-4} \text{ mm}$  的硅酸凝胶。

玻璃电极对碱性溶液中的氢离子和碱金属离子的活度都有响应, 而且对前者的响应相对低于对后者的响应。高 pH 下会出现负的 pH 偏差也说明电极对碱金属离子和氢离子都有响应。偏差的程度与一价阳离子的种类和玻璃的组成有关。由于早期玻璃电极的这种误差, 玻璃只用于约为  $\text{pH} < 12$  的碱误差可以忽略的测定。后来发展的其他玻璃也可测定除氢离子以外的其他阳离子, 如  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  和  $\text{NH}_4^+$ , 还有商品化地测定  $\text{H}^+$ 、 $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  的玻璃电极。

## 3. 液膜电极

液膜电极包括液态电活性物质制成的膜, 或者电活性物质溶解在适宜的挥发、与水不互溶的溶剂(介质)中制成的膜。在早期的设计中, 主体有机相被置于两水相之间, 或者以一层薄的多孔纤维片, 烧结玻璃或类似物为支持。随着这类传感器工作的发展, 越来越多的耐用的多聚物用作支持物, 特别是聚氯乙烯(PVC)。电活性化合物与 PVC 及适宜的增塑剂一起溶解在溶剂(通常是四氢呋喃或环己酮)中, 溶剂挥发以后, 就形成了塑化的 PVC 离子选择性膜。由于塑化的多聚物性质类似于黏稠液体, 电极的特性就与最初的湿膜特性相似。电活性膜材料主要可分为三类: 离子交换剂、中性载体和电负荷载体。

在液态离子交换电极中, 电活性材料通常是高亲脂性的阳离子或阴离子盐(离子对)以确保其油溶性。例如硝酸根、氟硼酸根、高氯酸根选择性电极都有商品化产品可提供, 这主要是基于这样的离子对, 即阴离子与三(取代 1, 10-邻二氮菲)-金属(II)阳离子或含有至少一个长链烷烃的季铵盐阳离子。油溶性离子的抗干扰的选择性优于初始离子。以上所述的电极通常遵守 Hofmeister 序列:



可用于判断可能出现的干扰。同样, 对于阳离子(如  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{TL}^+$  和共价有机阳离子)而言, 像四苯硼酸盐这样的有机阴离子是适合的膜补偿离子。这些阳离子选择性电极通常用于临床用某些重要分子的传感器, 因为在低 pH 下, 这些药物通常以阳离子形式存在。

第二种液膜电极是基于中性载体, 主要为亲脂性, 多功能化合物, 具有主要为醚氧和(或)酮氧的活性基团, 可以形成一个笼捕获带正电荷阳离子。环状聚醚或类似的大环化合物例如缬氨米星和无活性菌素, 可以根据阳离子

的大小来区分不同的阳离子; 最适合络合点的阳离子最易被络合。基于缬氨米星的  $\text{K}^+$  选择性电极就是这类市场化的传感器的最好代表。各种冠醚, 含聚氧乙烯链的化合物, 或特定的选择性载体可供选择用于商品化的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ba}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  选择性电极。

第三种离子选择性载体包括所谓的电负荷载体或络合离子交换剂。与简单离子交换剂不同, 负荷载体的选择性由被测离子与载体的络合程度以及被测物参与膜溶剂的程度决定。最好的例子就是最初用于  $\text{Ca}^{2+}$  选择性电极的磷酸烷基酯; 由于使用磷酸烷基酯作为膜材料增加了对钙的选择性。

## 4. 气体传感电极

气体传感电极是各种膜传感器的一种代表。其气透膜把被测液与插有离子选择性电极的内电解液薄层分隔开。例如氨传感器, 接收层的 pH 由 Henderson-Hasselbach 方程确定[式(18)], 是由溶剂化的  $\text{NH}_3$  和  $\text{NH}_4^+$  之间的化学平衡推导而来的:

$$\text{pH} = \text{pK}_a(\text{NH}_4^+) + \log [\text{NH}_3]/[\text{NH}_4^+] \quad (18)$$

如果溶液层里含有大量高浓度的本底铵盐(通常为  $\text{NH}_4^+$  苦味酸盐), 玻璃电极的 pH 仅与一个变量成正比, 即  $[\text{NH}_4^+]$ , 而  $[\text{NH}_4^+]$  则受扩散进入气敏膜的  $\text{NH}_3$  的量所决定[式(19)]

$$E = \text{常数} + 0.05916 \log p(\text{NH}_3) \quad (19)$$

式中:  $p(\text{NH}_3)$  为样品中测得的  $\text{NH}_3$  的分压。同样, 如果玻璃 pH 电极被对  $\text{NH}_4^+$  有响应的多聚物膜替代(一种基于无活性菌素的  $\text{NH}_4^+$  选择性电极), 其信号与 pH 无关, 而与样品中  $\text{NH}_4^+$  的平衡浓度相关。氨气敏电极主要用于测定铵盐, 可以通过在被测样品中加入氢氧化钠后释放出  $\text{NH}_3$ 。总氮量可以通过对样品进行凯氏(Kjeldahl)降解来测定。

基于相似机理的第一个气敏电极是二氧化碳电极, 用于测定血中的  $\text{CO}_2$ 。后来又陆续有其他的气敏电极( $\text{SO}_2$ 、 $\text{NO}_x$ 、HCN 等)出现在市场上。

## 5. 生物催化膜电极

上述气敏电极结构是生物体中重要种类物质<sup>[12~17]</sup>的电位测定的基本单元。静止或难溶的生物催化剂被置于传统的离子选择性电极上, 用于测定生化反应中反应物的减少和产物的增加。生物催化剂包括单独的酶, 亚细胞部分, 完整细菌细胞, 哺乳动物和植物组织的核心部分。由于离子通常是在这些反应中形成的, 那么就有可能通过监测这些离子的活度来测定底物。例如, 苦杏仁能被  $\beta$ -葡萄糖苷酶降解成苯甲醛、葡萄糖和 HCN;  $\text{CN}^-$  选择性电极被用作内传感器。同样,  $\text{NH}_4^+$  选择性电极可以响应脲酶催化尿素产生的  $\text{NH}_4^+$ 。

近年来, 气敏电极由于其对常规阳离子和阴离子的高选择性, 使用得非常频繁。因此, 上述的生物催化尿素传感器可以在氨气传感器的透气表面上固定脲酶获得; 当

## D

探针插入含有尿素的样品缓冲液中,酶就会把尿素催化转化为  $\text{NH}_3$  并由上述气敏电极测得。酶的高效和高选择性催化加上气敏电极的选择性检测作用,使得我们可以建立一种测定多种重要药用化合物的灵敏工具体系。但是目前应该强调的是绝大多数生物传感器是以安培法为基础的。

## 选择系数

在离子选择性电极的测定中,其他离子的干扰可以通过式(17)中的选择系数  $k_{\text{Cl},X}^{\text{pot}}$  表述。如果了解离子选择性膜的特性,就可以比较容易地估计所存在的干扰。例如,在以膜中  $\text{AgCl}$  为电活性物质的  $\text{Cl}^-$  选择性电极测定  $\text{Cl}^-$  时,必须控制溴化物或碘化物(通常是  $\text{X}^-$ ) 的浓度,因为它们能形成比  $\text{AgCl}$  更难溶的银盐;式(20)中相应的卤化银产物的溶解度用于估计选择系数:

$$k_{\text{Cl},X}^{\text{pot}} \cong K_s(\text{AgCl})/K_s(\text{AgX}) \quad (20)$$

但是这种估计只是粗略的。可以用两种首选方法进行确切测定。

在分离溶液方法中,可以首先测定溶液中的决定性离子  $i$  的电池电压  $E_i$ , 然后测定溶液中的干扰离子  $j$  的电池电压  $E_j$ 。把式(17)应用于这两种溶液,可以得到式(21)

$$\log k_{\text{Cl},X}^{\text{pot}} = (E_j - E_i)z_i F / 2.303RT + \log a_i - z_i/z_j \log a_j \quad (21)$$

假设主要的干扰物为带同样电荷的离子且溶液的活度相同时,该式可以进一步简化。

在最简单的混合溶液方法中,可以通过测定一系列具不同活度的主要离子和固定活度干扰离子的溶液(图1)来测定电池电压。当以  $E$  对  $\log a_i$  作图时,在低  $a_i$  值处,能斯特斜率在相应于恒定的活度  $a_j$  为恒定值的电压  $E_j$  处发生改变。通过与这种依赖性相应的渐近线的交点可以求出  $\log a_i^*$  值,从而由式(22)计算出  $k_{\text{Cl},X}^{\text{pot}}$ :

$$k_{\text{Cl},X}^{\text{pot}} = a_i^* / a_j^{z_i/z_j} \quad (22)$$

所有方法的缺陷都在于对斜率  $2.303RT/z_i F$  的假设都是能斯特响应或至少不受存在的干扰物的影响的。此外,对许多电极而言,尤其是液膜体系,由于它们的时间依赖性,选择系数并不是都具有高重复性或可以精确地定量。这也是为什么不同的方法得出的选择系数有差别,但它们的差别不超过一个数量级,因此还是可以很好地用来估计所存在的干扰成分带来的偏差。

## 仪器

选择电位测定仪器首先需要考虑的是需要达到的精度和应用范围。仪器不能对正在使用的电池产生电流。历史上曾经通过使用一个参比电池提供的可测定电压的补偿来进行电位测定(非常精确但是也非常冗长),这样实际上就没有电流通过测定电池。这种电位计到目前为止几乎完全被具有高的内阻抗的电子伏特计所取代。这在膜电极的使用中尤为重要,内阻抗可能从  $1 \sim 100 \text{ M}\Omega$  甚至更大。这种高阻抗仪器通常被称为 pH 计或离子计。以微处理器控制

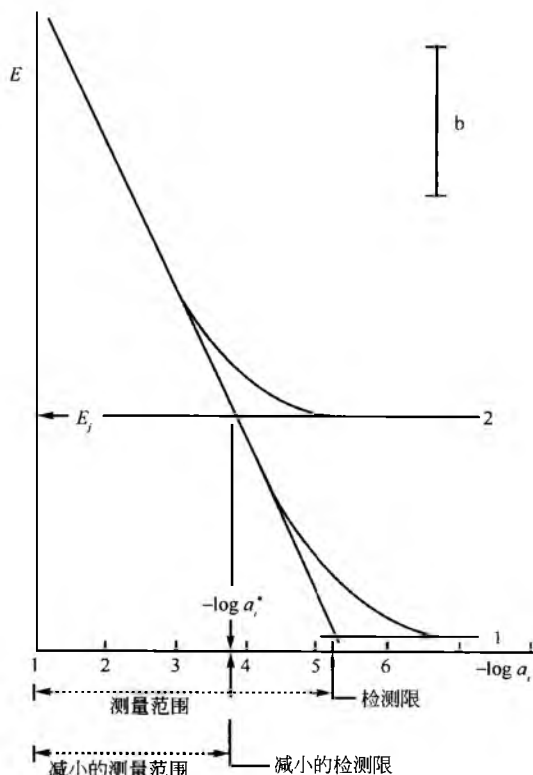


图1 离子选择性电极的校正表和选择系数的评估。  
1—校正响应对溶液中游离待测物  $i$  的  $-\log a_i$ , 实际检测限为如图所示外推线交点的活度(或浓度); 2—校正响应对溶液中存在干扰物  $j$  时待测物  $i$  的  $-\log a_i$ , 干扰物  $j$  的活度已知且为常数。实际检测限为如图所示外推线交点的活度(或浓度)。响应  $E_j$  由公式  $-\log a_i^* = -\log k_{\text{Cl},X}^{\text{pot}} a_j^{z_i/z_j}$  得出。产生的干扰限定在测定范围之内。 $b$  坐标约等于  $60/z_i \text{ mV}$

的测定仪为代表的新一代仪器使得测定的自动化成为可能,许多厂家都在生产这类仪器(如 Orion Research, Radiometer 和 Metrohm 万通)。自动电位滴定仪也在不断地被研制和生产,装置都是模块化的,单个部件(离子计,自动滴定管,记录仪以及计算机)都可以独立地使用。

## 实验技术

### 1. 直接电位测定法

在有合适的指示电极时,直接电位测定法可以完成试样的化学分析。该方法操作简单,只需要将标准溶液和被测液的电位进行比较即可。如果电极响应具专属性且本底无干扰,则不需要任何前处理步骤。尽管大部分测定都是不连续的,但是直接电位测定法也适于连续及自动监控。

#### 1.1 pH 的测定

电化学 pH 电池主要由 pH 电极(指示电极)和参比电

极组成,在测定时都与被测溶液相接触。通常是 pH 玻璃电极和饱和甘汞电极一起使用,这样 pH 计就能测定电池电位  $E$  [式 (23)]

$$E = E_{\text{参比}} - E_{\text{指示}} + \Delta\phi_L \quad (23)$$

式中:  $E_{\text{参比}}$  为参比电极的电势;  $E_{\text{指示}}$  为指示电极的电势;  $\Delta\phi_L$  为两种不同液体界面产生的液接电位。对于带 pH 测定电极的电池,式 (23) 可以写为式 (24):

$$E = \text{常数} - 2.303RT/F \log a(\text{H}^+) + \Delta\phi_L \quad (24)$$

常数项(包括  $E_{\text{参比}}$  和 pH 电极的常数替代  $E^0$ ) 和  $\Delta\phi_L$  都是未知的。这些未知量可以通过 pH (X) 的被测液的电池电位  $E$  (X) 减去 pH (S) 的标准液的电池电位  $E$  (S) (表 2) 来消除,见式 (25):

$$E(X) - E(S) = -2.303RT/F [\log a(\text{H}^+)_x - \log a(\text{H}^+)_s] \quad (25)$$

以及式 (26):

$$\text{pH}(X) = [E(X) - E(S)]F/2.303RT + \text{pH}(S) \quad (26)$$

假定  $\Delta\phi_L(X) - \Delta\phi_L(S)$  被消除, pH (X) 的准确性部分取决于被测液与标准溶液性质上的接近程度以及电池响应的能斯特方程的严密性。很明显,人们希望 pH 尽可能标准化。在更精密的测定中,建议采用两种标准缓冲液, pH ( $S_1$ ) 和 pH ( $S_2$ ), pH (X) 被包含在两者之间。pH (X) 可由式 (27) 得出:

$$\frac{[\text{pH}(X) - \text{pH}(S_1)]}{[\text{pH}(S_1) - \text{pH}(S_2)]} = \frac{[E(X) - E(S_1)]}{[E(S_1) - E(S_2)]} \quad (27)$$

式 (27) 表示所谓的 pH 刻度的实际定义<sup>[18]</sup>。很明显,实际上式 (26) 和式 (27) 给出的是电位差值,而不是直接的 pH 读数。但是, pH (S) 值可以替代  $E$  (S) 直接调整为仪器的刻度。在标准缓冲溶液(表 2)的制备中,必须使用高纯度的材料和新鲜制备的去二氧化碳的重蒸水,这样标准溶液的电导率不应超过  $2\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

我们经常需要在非常温的条件下测定 pH。生物样品经常保存在  $0^\circ\text{C}$ , 临床样品需要在  $38^\circ\text{C}$  测定,培养基中使用的缓冲液和凝胶通常需要在  $60^\circ\text{C}$  左右测定,许多工业处理过程在更高的温度下进行。能斯特方程包含可以通过自动温度补偿修正的温度参数,每一个 pH 计都附有详细的说明。玻璃 Ross 电极以铂丝为参比电极,铂丝插入碘(三碘化物)和碘化钾的溶液中,由于其热力学可逆的可重复接触电势(虽然铂丝电势随温度变化,但是氧化还原溶液中的缓冲液具有绝对值相同但实际值相反的温度系数,可以在温度变化时使整个参比系统几乎没有电位的变化),所以具有极佳的性能。

## 1.2 pX 的测定

pX 的测定包括使用除了  $\text{H}^+$  选择性电极以外的其他离子选择性电极直接测定活度(浓度)<sup>[19]</sup>。尽管不像 pH 测定那么好,但是也有各种不同的方法。最简单的步骤就是用离子选择性电极测定由一系列不同浓度溶液组成的电池电压,通常的浓度范围在  $10^{-6} \sim 10^{-1} \text{mol/L}$  (或者类似于 pH 的刻度,在  $\text{pX}=6 \sim 1$ )。在定义  $\text{pX} = -\log a_i$  (图 1) 后,典型的校正曲线图在  $\text{pX}=1 \sim 5$  成线性。但是实际上浓度的测定用得更多。在这种情形下,是以电池电压值对测定离子浓度的对数值作图,例如  $\text{pX} = -\log c_i$ 。但是在高浓度下也就是活度系数  $\gamma_i$  小于 1 的情况下(提醒一下活度和浓度的关系,  $a_i = \gamma_i c_i$ ),这一校正曲线图与由活度得到的校正曲线图有区别。采用与样品组成尽量接近的标准溶液,保持与样品测定相同的条件(调整 pH 和离子强度,屏蔽干扰物等)。用模拟标准得到的结果最好,因为校正曲线上包含了样品中其他干扰组分。据最近报道<sup>[20]</sup>,通过调整离子选择性电极的内电解质溶液的组成,可以显著提高较低的检测限至微摩尔浓度( $\times 10^{-6}$  级)。

表 2 标准缓冲溶液

组成	不同温度 ( $^\circ\text{C}$ ) 时的 pH					
	0	20	25	30	38	60
0.1mol/L 盐酸	1.187	1.194	1.197	1.200	1.202	1.213
0.05mol/L 四草酸钾	1.666	1.675	1.679	1.683	1.691	1.723
饱和酒石酸氢钾 (25 $^\circ\text{C}$ )			2.557	3.552	3.548	3.560
0.05mol/L 枸橼酸氢钾	3.863	3.788	3.776	3.766		
0.05mol/L 邻苯二甲酸氢钾	4.003	4.002	4.008	4.015	4.030	4.091
1+1 磷酸盐缓冲液 (0.025mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4$ + 0.025mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	6.984	6.881	6.865	6.853	6.840	6.836
1+3.5 磷酸盐缓冲液 (0.008 695mol/L $\text{KH}_2\text{PO}_4$ + 0.030 43mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	7.534	7.429	7.413	7.400	7.384	
0.01mol/L 硼砂	9.464	9.225	9.180	9.139	9.081	8.962
1+1 碳酸盐缓冲液 (0.025mol/L $\text{NaHCO}_3$ + 0.025mol/L $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	10.317	10.062	10.012	9.966		
饱和氢氧化钙 (25 $^\circ\text{C}$ )	13.423	12.627	12.454	12.289	12.043	11.499

最通常使用的模式(也是最简单的模式)是用两种标准溶液进行校正。在离子选择性电极的能斯特响应范围内适于采用直接电位测定,特别是在不同的温度范围内进行分析。在每一批样品的测定之间都要用两种标准溶液进行校正。首先得出电池常数值(或传感电极的  $E^0$  值),接着是校正斜率。两种标准溶液的浓度范围应该涵盖被测样品的浓度,因为如果外推的话误差将会放大。在非能斯特响应范围,用校正曲线优于用计算得出的浓度值,因为校正曲线已经弯曲,需要更多的标准溶液(至少4种)来确定。

也可以采用加入法(也称减去法)。这种方法不需要电池常数但需要校正斜率。最简单的测定包括向体积为  $V_x$  的样品中加入体积为  $V_s$  的标准溶液前后的两个电压读数  $E_1$  和  $E_2$ , 见式(28)和(29)

$$E_1 = \text{常数} + \text{斜率} \log C_x \quad (28)$$

$$E_2 = \text{常数} + \text{斜率} \log(c_x V_x + c_s V_s)/(V_x + V_s) \quad (29)$$

式中:  $c_x$  表示样品的浓度,  $c_s$  表示标准溶液的浓度。从电池电压的变化 ( $\Delta E = E_2 - E_1$ ), 就可以由式(30)求出未知浓度  $c_x$ :

$$c_x = c_s V_s / [(V_x + V_s) 10^{\Delta E / \text{斜率}} - V_x] \quad (30)$$

在这一著名的加入法中,斜率因子是由迭代计算在浓度测定时同时确定的。使用多次加入法,未知浓度  $c$  可以由图表确定(图2)。在  $(V_x + V_s) 10^{E/\text{斜率}} = 0$  时,由  $x$  轴上的截距得出符号相反的体积  $-V_x$  与未知浓度值相当,计算的浓度见式(31):

$$c_x = -c_s V_s / V_x \quad (31)$$

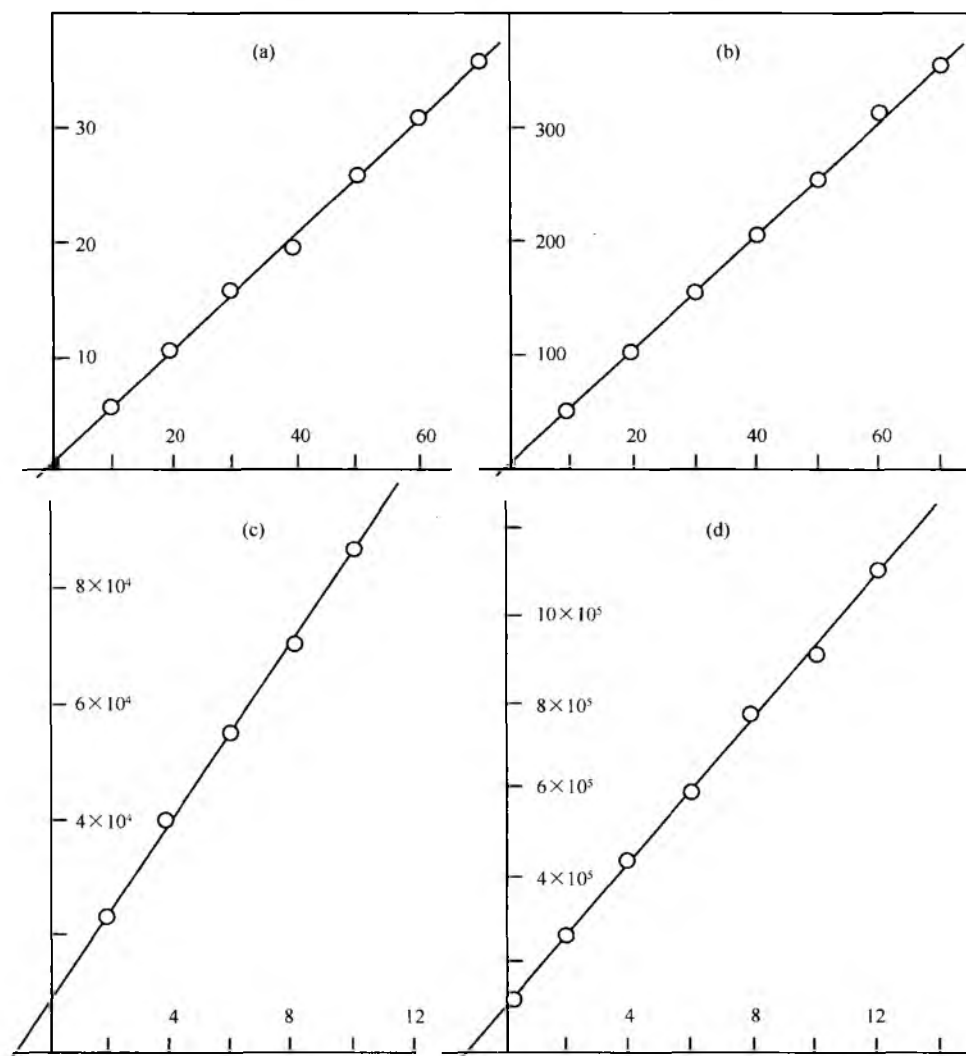


图2 已知样品中离子浓度的多次加入法图表分析。用  $\text{BF}_4^-$ -离子选择性电极测定四氟硼酸的实验数据。(a)  $c_x = 10^{-4} \text{ mol/L}$ ,  $c_s = 10^{-2} \text{ mol/L}$ ; (b)  $c_x = 10^{-5} \text{ mol/L}$ ,  $c_s = 10^{-3} \text{ mol/L}$ ; (c)  $c_x = 10^{-3} \text{ mol/L}$ ,  $c_s = 10^{-1} \text{ mol/L}$ ; (d)  $c_x = 10^{-4} \text{ mol/L}$ ,  $c_s = 10^{-2} \text{ mol/L}$ ; 所有情况下  $V_x = 100 \text{ mL}$ 。  $(V_x + V_s) 10^{E/2.303RT}$  值由加入的标准溶液的体积在  $y$  轴上。 $V_x$  则为  $x$  轴上的截距

(摘改自 Sb. Ved. Pr., Vys. Sk. Chemickotechnol. Pardubice, 1986, 49, 149)

### 1.3 流动测定

流动注射分析技术 (FIA) 是一种有用而且快速的自动分析方法。样品或试剂注入组成恒定的溶液流中, 需要在载体流中注入与样品体积相同的标准溶液对 FIA 系统进行校正。标准的背景化学组成应该尽可能与样品相同, 不需要频繁地进行标化, 尽管基线是斜的, 但是峰高的测定相对于电池电压的漂移几乎不会改变。蠕动泵可能会带来些麻烦, 由于液流的脉动会带来额外的电位。小体积的检测池 ( $< 20 \mu\text{L}$ ), 或者壁喷式检测池是连续测定中最可接受的<sup>[21, 22]</sup>。

### 2. 电位滴定

与直接电位分析相比, 尽管以时间和滴定剂消耗的增加为代价, 电位滴定技术仍具有准确性和精密度高的优势。另一个优点是尽管滴定终点的电位突跃必须明显, 但是传感电极响应的斜率不必是可重复的, 也不必是能斯特响应的, 终点的实际电位值也不重要。很多情况下, 这使我们可以考虑使用最简单的传感器。

对于固定电位的滴定, 虽然不必了解校正斜率, 但是必须通过校正以选择正确的电位。例如在 pH 滴定中, 可以通过缓冲溶液进行校正。电位滴定的误差通常比直接电位分析小得多。

## 药物应用

对于药物的分析控制, 大多数药典都给出了精确的方

法, 但是某些情况下却非常冗长和麻烦。就简单快速而言离子选择性电极技术比官方方法具有许多优势<sup>[23~29]</sup>。通常, 上述各种类型的电极可以用来分析各种药用化合物。例如, 卤素离子选择性电极通常用来测定含有季氮的阳离子和反卤离子化合物。传统的滴定技术, 如 pH 电位滴定, 氧化还原滴定, 是用来测定酸碱或带有可被氧化或还原官能团的化合物。

但是大多数离子选择性电极, 不能用来直接测定有机化合物中的官能团, 除非它们先转化为离子类型。因此, 很少有商品化的离子选择性电极用于有机化合物的直接电位分析。例如,  $\text{CN}^-$  选择性电极测定取代苯乙腈和氰化苯时几乎全部是能斯特响应。用  $\text{Ag}_2\text{S}$  电极直接测定电池电压可以用来测定硫醇。但这些例子都不是离子选择性电极的典型应用。

### 1. 典型药物选择性电极

典型药物选择性电极通常为液膜类型。需要指出的是实际上任何类型的离子都能由液体离子选择电极检测。基本思路如下: 制备一个对阴离子  $\text{X}^-$  响应的膜, 如果把盐  $\text{Q}^+\text{X}^-$  溶解在不挥发的溶剂中; 阳离子  $\text{Q}^+$  必须是高亲脂性的。同样, 对阳离子  $\text{Q}^+$  响应的电极, 必须用油溶性盐  $\text{Q}^+\text{X}^-$ ; 阴离子  $\text{X}^-$  是亲脂性的。因此, 长链烷基和芳香季铵盐和高分子质量阳离子染料适合在制备阴离子选择性液膜电极时充当液体阴离子交换剂。四苯硼酸盐和大分子阴离子表面活性剂如十二烷基磺酸钠对重的单价无机阳离子具有好的选择性, 也可以作为其他“铯”离子的膜电极。在制备药物选择性电极时应该遵守这些规则。表 3 给出了一些例子。

表 3 药物选择性电极示例

物质	类型	膜上的电活性物质	介质
乙酰胆碱	PVC	吡啶橙赖内克酸盐	DOP
阿米替林	Liq	曙红, 四苯硼酸盐或四 kis (3-氯苯) 硼酸盐作为对离子	NC, NT
苯丙胺	Liq	苯丙胺的十八烷基磺酸盐	NB
阿托品	Liq 或 PVC	阿托品和四苯硼酸盐或四 kis (3-氯苯) 硼酸盐, 赖内克酸盐, 六硝基二苯胺盐或四碘汞酸盐 (II) 的离子对	BA, NB, NT, OA 或 BEHP, DNP, DOP
巴美生	PVC	巴美生四苯硼酸盐	各种类型
番木鳖碱, 二甲马钱子碱	PVC	四苯硼酸钾	DBP
布比卡因	PVC	布比卡因的邻苯二甲酸二壬酯磺酸盐	
丁基东莨菪碱	PVC	N-丁基东莨菪碱四苯硼酸盐	DBP
胆酸	Liq 或 PVC	苄基二甲胺胆 (酸) 酯或三丁基十六烷基膦安息香酸盐	NB
可待因	Liq PVC	可待因的六硝基二苯胺盐 四苯硼酸钾	NBDBP
麻黄碱	Liq PVC	麻黄碱的 5-硝基巴比妥酸盐或黄安酸盐 麻黄碱的四苯硼酸盐	NB 或 OA DOP
谷氨酸酯	Liq	甲基三辛酰铵的谷氨酸盐	DA
利多卡因	Liq PVC	利多卡因的六硝基二苯胺盐或赖内克酸盐四 kis (3-氯苯) 硼酸盐或邻苯二甲酸二壬酯磺酸盐作为对离子	NB DNP

续表

物质	类型	膜上的电活性物质	介质
尼古丁	Liq 或 PVC	尼古丁的四苯硼酸盐或四 kis (3-氯苯) 硼酸盐	NT, NB
普鲁卡因	Liq	普鲁卡因的四苯硼酸盐或六硝基二苯胺盐	NB
草酸盐	Liq	三癸酰基甲铵草酸盐	DA
罂粟碱	Liq	与烷基硫酸盐, 芳基磺酸盐或四苯硼酸盐形成的离子对	NB
苯环利定	PVC	苯环利定的邻苯二甲酸二壬酯磺酸盐	DOP
毛果芸香碱	PVC	毛果芸香碱的赖内克酸盐或四苯硼酸盐	DBP
奎宁	PVC	奎宁的四苯硼酸盐	DBP, DBS, NB, NPOE
水杨酸盐	Liq PVC Epoxy	三癸酰基甲铵草酸盐或四己铵水杨酸盐 乙基紫作为对离子 三辛基甲基铵的水杨酸盐	DA
土的宁, 番木鳖碱	Liq	土的宁的苦酮酸盐或四 kis (3-氯苯) 硼酸盐	
磺胺甲噁啉	Liq	三红菲咯咪铁 (II) 作为对离子	NB
维生素 B <sub>1</sub> , B <sub>6</sub>	Liq	同罂粟碱	

注: Liq=随离子交换溶液进入透水隔膜的液膜; PVC=塑化聚氯乙烯; Epoxy=导电环氧树脂膜。BA=苯乙醇; BEHP=双[2-乙基己基]邻苯二甲酸二酯; DA=1-癸醇; DBP=邻苯二甲酸二丁酯; DBS=癸二酸二丁酯; DNP=邻苯二甲酸二壬酯; DOP=邻苯二甲酸二辛酯; NB=硝基苯; NPOE=2-硝基苯基辛基醚; NT=2-硝基甲苯或4-硝基甲苯; OA=1-辛醇。

## 2. 以形成离子对为基础的滴定

在这类滴定中<sup>[28~31]</sup>, 阳离子(Q<sup>+</sup>)或阴离子(X<sup>-</sup>)可以分别用带相反电荷的滴定剂(X<sup>-</sup>或Q<sup>+</sup>)滴定。如果被测物或滴定剂(或两者都)具有足够的亲脂性, 就会形成难溶的离子对沉淀, Q<sup>+</sup>+X<sup>-</sup>——QX。另外, 同样的离子对由于其在有机相水相互溶的溶剂中的可提取性, 还可用作液膜电极的活性成分。正是因为这一特性, 简化的传感器可以用来监测这种滴定。另一成功使用的策略是涂层丝电极。膜材料在这里直接涂在金属丝上(直接接触替代了内参比电极)。另外, 可以用不含活性物质的多聚物溶液制备膜。当传感器的有机相(增塑剂)插入搅拌下的含有QX离子对的水相混悬液中, 逐渐变为饱和, 由式(32)得出浓度:

$$[QX]_{\text{有机}} = K_{\text{ex}}(QX) [Q^+]_{\text{水}} [X^-]_{\text{水}} \\ = K_{\text{ex}}(QX) K_s(QX) \quad (32)$$

式中: K<sub>ex</sub>(QX)和K<sub>s</sub>(QX)分别为化学计量的提取常数和QX的溶度积。浓度[QX]<sub>有机</sub>表明膜上离子交换点的数目, 尽管也可能有表面吸附参加。这就是为什么所有的液态和(或)塑料膜电极可以对被测离子之外的其他离子敏感, 用于监测以离子对的形成为基础的滴定反应。通过把中央导体(铂, 碳棒, 也可以用铝线)浸入溶解有多聚物和增塑剂的溶液, 然后使溶剂挥发得到的简单价廉的涂层丝电极, 是一种非常适宜的电极。

考虑到滴定剂, 阳离子化合物(如质子化的生物碱, 含有季氮的化合物等)通常选用四苯硼钠进行滴定, 而四苯硼钠的确切浓度可以在1, 10-邻二氮菲存在的情况下通

过滴定标准物质硝酸铯(I)或纯铜(II)或镍盐(II)。对于阴离子的滴定, 可以选用取代的季铵盐或吡啶盐<sup>[30]</sup>。步骤简单, 是所谓两相滴定的生态选择<sup>[32]</sup>。

## 3. 基于络合物形成的滴定

含有氮、氧、硫等原子的有机分子可以给出电子对。作为电子给体, 它们可以和金属离子(M)形成络合物(金属离子是电子受体), 作为一元配基或多元配基合配体(L)。由于有机分子上存在其他官能团, 络合物可能带电荷也可能为电中性, 在水中溶解或不溶解。因此, 化学反应可以认为是 nL+mM——M<sub>n</sub>L<sub>m</sub> (忽略所带电荷)。实验证明上述反应受到pH和副反应竞争的影响, 副反应是由于溶液中存在的各种物质造成的(如缓冲体系组分或对离子中的其他配体)。因此, 如果络合物β(M<sub>n</sub>L<sub>m</sub>)的条件稳定常数足够高, 就可以通过金属盐溶液滴定配体化合物的浓度。可以选用适宜的金属离子选择电极来监控滴定反应。至于药物, 许多可以通过铜、铅、汞、银和其他金属的盐溶液来进行滴定<sup>[28,29]</sup>。

## 4. 在非水介质中的滴定

非水介质中的电位分析<sup>[33,34]</sup>与水相中的电位分析方法装置都类似。电极和被测液之间的盐桥的组成稍有差别, 而且在惰性溶剂的滴定中, 滴定容器的屏蔽和接地也不同。电池电压由高内阻抗的电位计来测定。被测物在水中溶解度低或者在水溶液中为弱酸或弱碱, 通常采用非水介质。在与水类似的溶剂中, 溶质和溶剂的相互作用与水类似, 但是由于其更小的介电常数带来的差别, 使得溶质和溶剂

进一步缔合形成不同的离子对、可以观察到作为浓度函数的静电场电荷。非水介质中的电位滴定应用范围很广；终点由于被测酸碱的强度，溶剂和滴定剂不同而不同。对于水不溶性弱碱的测定，使用给质子的酸性溶剂（如冰醋酸或丙酸）。滴定剂采用溶解在介质中的高氯酸，能给出乙酰酸离子  $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$ 。作为质子受体的碱性溶剂，如乙二胺、吡啶、丁胺、二甲基甲酰胺，可用于滴定酸溶液或具有类似性质的化合物（酚、亚胺、磺胺等）。在这种情况下，形成了已溶解的酸的共轭碱和溶剂化的质子；可以采用氢氧化四丁基铵或其他碱性滴定剂。采用如正己烷、苯、四氯化碳等惰性溶剂，酸和碱将显示各自不同的原有的强度。溶剂不参与中和过程，形成的产物具有加合和缔合性。

### 5. 亚硝酸钠的滴定

这是一种经常还在使用的传统滴定方法，用于芳香环上含有伯胺官能团的测定，通常使用铂指示电极，这种快速方法用于药物的测定（磺胺类化合物，苯佐卡因，普鲁卡因等），所得结果与官方分析方法所得结果一致<sup>[35]</sup>。

### 6. 以偶氮反应为基础的滴定

在亚硝酸钠滴定中产生的芳香重氮盐可以用于偶氮反应<sup>[36]</sup>。各种芳香胺，酚类，含有活性次甲基基团的化合物能由芳基重氮盐滴定，其中氯化 4-溴-1-萘重氮盐是应用最广的滴定剂。与芳基重氮盐反应迟缓的化合物可以采用回滴的方法分析，过量的芳基重氮盐可以由四苯硼钠或 2, 4-二氨基苯甲回滴。间接滴定对仲胺的测定非常有效，仲胺与芳基重氮离子形成三氮烯。两性重氮化合物的测定基于其与 1-苯基-3-甲基-5-吡唑酮的反应，过量的 1-苯基-3-甲基-5-吡唑酮由氯化 4-溴-1-萘重氮盐溶液滴定。

### 7. 动力学方法

在药物分析中除了平衡技术外也有动力学方法，因为对于某些药物，尤其是含有性质相近化合物的混合物，反应较慢的化合物，可催化的化合物，采用动力学方法更具优势。动力学方法的选择性和灵敏度加上离子选择性电极的选择性和灵敏度为新的分析模式提供了多样化的组合<sup>[37]</sup>。

### 参考文献

- Compton, R. G.; Sanders, H. W. *Electrode Potentials*; Oxford Univ. Press; Oxford, 1996.
- Brett, M. A.; Oliveira Brett, A. M. *Electroanalysis*; Oxford Univ. Press; Oxford, 1998.
- Bailey, P. L. *Analysis with Ion-Selective Electrodes*; Heyden; London, 1976.
- Lakshminarayanaiah, N. *Membrane Electrodes*; Academic Press; New York, 1976.
- Vesely, J.; Weiss, D.; Štulík, K. *Analysis with Ion-Selective Electrodes*; Horwood; Chichester, 1978.
- Koryta, J.; Štulík, K. *Ion-Selective Electrodes*; 2nd Ed.; Cambridge Univ. Press; Cambridge, 1983.
- Buck, R. P. *Electrochemical Methods; Ion-Selective Electrodes. Water Analysis*; Minear, R. P., Keith, L. H. Eds.; Academic Press; Orlando, 1984; II, 250—321.
- Janata, J. *Principles of Chemical Sensors*; Plenum Press; New York, 1989.
- Midgley, D.; Torrance, K. *Potentiometric Water Analysis*, 2nd Ed.; Wiley; Chichester, 1991.
- Catrrall, R. W. *Chemical Sensors*; Oxford Univ. Press; Oxford, 1997.
- Eisenman, G. *Glass Electrodes for Hydrogen and Other Cations*; Marcel Dekker, Inc. New York, 1967.
- Arnold, M. A. *An Introduction to Biocatalytic Membrane Electrodes*; Int. Lab., 1983; 13 (6), 24—32.
- Guilbault, G. G.; Schmidt, R. D. *Biosensors for the Determination of Drug Substances. Biotechnol. Appl. Biochem.* 1991, 14, 133—145.
- Kauffmann, J. M.; Guilbault, G. G. *Enzyme Electrode Biosensors; Theory and Applications. Bioanalytical Application of Enzymes*; Suetler, C. H., Ed.; Wiley; New York, 1992; 36, 63—113.
- Pratinis, D. M.; Telting-Diaz, M.; Meyerhoff, M. E. *Potentiometric Ion-, Gas-, and Bioselective Membrane Electrodes. Crit. Rev. Anal. Chem.* 1992, 23, 163—186.
- Buerk, D. G. *Biosensors, Theory and Applications*; Technomic Publ. Co. Lancaster, 1993.
- Diamond, D. *Principles of Chemical and Biological Sensors*; Wiley; New York, 1998.
- Bates, R. G. *Determination of pH, Theory and Practice*; Wiley; New York, 1964.
- Buck, R. P.; Cosofret, V. V. *Recommended Procedures for Calibration of Ion-Selective Electrodes (Technical Report)*. *Pure Appl. Chem.* 1993, 65, 1849—1858.
- Bakker, E.; Bühlmann, P.; Pretsch, E. *Polymer Membrane Ion-Selective Electrodes—What are the Limits? Electroanalysis* 1999, 11, 915—933.
- Rioka, J.; Hansen, E. H. *Flow-Injection Analysis*; Wiley; New York, 1981.
- Štulík, K.; Pacáková, V. *Electroanalytical Measurements in Flowing Liquids*; Horwood; Chichester, 1987.
- Baiulescu, G. E.; Cosofret, V. V. *Applications of Ion-Selective Membrane Electrodes in Organic Analysis*; Horwood; Chichester, 1977.
- Ma, T. S.; Hassan, S. S. M. *Organic Analysis Using Ion-Selective Electrodes*; Academic Press; London, 1982; 1/2.
- Cosofret, V. V. *Membrane Electrodes in Drug-Substance Analysis*; Pergamon Press; Oxford, 1982.

D

26. Cunningham, L.; Freiser, H. Ion-Selective Electrodes for Basic Drugs. *Anal. Chim. Acta* 1982, 139, 97—103.
27. Cosofret, V. V.; Buck, R. P. Drug-Substances Analysis with Membrane Electrodes, *Ion-Sel. Electrode Rev.* 1984, 6, 59—121.
28. Vytras, K. The Use of Ion-Selective Electrodes in the Determination of Drug Substances. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1989, 7, 789—812.
29. Vytras, K. Contemporary Trends in the Use of Ion-Selective Electrodes in the Analysis of Organic Substances. In: *Advanced Instrumental Methods of Chemical Analysis*; Churáček, J., Ed.; Academia, Praha, and Horwood, Chichester, 1993, 142—164.
30. Vytras, K. Potentiometric Titrations Based on Ion-Pair Formations. *Ion-Sel. Electrode Rev.* 1985, 7, 77—164.
31. Schulz, R. Titration von Tensiden und Pharmaka, *Moderne Methoden für den Praktiker*; Verlag für chemische Industrie H. Ziolkowski, Augsburg, 1996.
32. Vytras, K.; Kalous, J.; Jezková, J. Automated Potentiometry as an Ecologic Alternative to Two-Phase Titrations of Surfactants. *Egypt. J. Anal. Chem.* 1997, 6, 107—123.
33. Gyenes, I. *Titration in Non-Aqueous Media*; Akademiai Kiado: Budapest, 1967.
34. Šafarik, L.; Stránský, Z. *Titrimetric Analysis in Organic Solvents*; Elsevier, Amsterdam, 1986.
35. Šubert, J. Drug Analysis. VI. Studies of Conditions for Diazotizing Titrations of Drugs with Potentiometric Indication and Standardization of a Volumetric Sodium Nitrite Solution. *Farm. Obz.* 1981, 50, 273—278.
36. Vytras, K. et al. Ion-Selective Electrodes in Titrations Involving Azo-Coupling Reactions, Parts 1—5. *Anal. Chim. Acta* 1982, 141, 163—171; 1984, 162, 141—151; 1984, 162, 373—377; 1985, 175, 309—312; 1985, 175, 313—317.
37. Efsthathiou, C. E.; Kouparis, M. A.; Hadjiioannou, T. P. Application of Ion-Selective Electrodes in Reaction Kinetics and Kinetic Analysis *Ion-Sel. Electrode Rev.* 1985, 7, 203—259.

(金蔚译)



# 锭剂

Robert W. Mendes

Massachusetts College of Pharmacy and Health Sciences (Retired), Dedham, Massachusetts, U. S. A.

Hridaya Bhargava

Massachusetts College of Pharmacy and Health Sciences, Boston, Massachusetts, U. S. A.

## 引言

锭剂是一种固体制剂, 包含一种或多种药物, 以及香精、甜味剂, 目的是使制剂可在口内慢慢溶解和崩解。锭剂可以通过模制 [明胶和 (或) 熔融蔗糖和山梨醇基质] 或者以蔗糖为基质压片。模制的锭剂常指软锭剂, 压制锭剂常指糖锭。锭剂的目的是使药物在舌头内侧表面溶解, 药物释放至口、舌、咽喉等局部, 实现局部给药最大和全身给药最少。

美国药典<sup>[1]</sup>已收载西吡氯铵锭剂和制霉菌素锭剂, 同时, 市售有 60 多种非处方锭剂产品<sup>[2]</sup>, 包括各种活性成分, 如抗生素、治疗咽喉疼痛的局麻药物、芳香剂、草药、锌盐、解充血药、感冒镇咳药、抗过敏药、咳嗽积痰、戒烟的烟碱类药物等。

## 硬糖锭

### 1. 原材料

应用于含药锭剂的原材料因许多因素而不同。大部分含药锭剂含糖、玉米糖浆、酸化剂、着色剂、香料和药物。

药用蔗糖为源于甘蔗或甜菜的葡萄糖——果糖双糖。选用甘蔗或甜菜蔗糖基于可获得性和地域考虑。蔗糖和蔗糖产品应用于含药锭剂是因为其为中性甜味剂, 易溶, 且作为“干燥剂”能减少糖膏剂结晶引起的质量损失。转化糖系蔗糖衍生物, 具有所需要的控制浓缩糖溶液结晶性的物理性质, 通过其致湿性, 可保持成品的新鲜。

玉米糖浆几乎应用于各种糖膏剂, 用来控制引起碎裂的蔗糖和葡萄糖的结晶现象。玉米糖浆与蔗糖和葡萄糖比例合适时会形成无定形玻璃态, 产生期望外观的锭剂。在药用糖果中玉米糖浆的重要性质包括相对密度、右旋糖量 (DE)、吸湿性、糖结晶作用、黏度、凝固点下降和渗透压。

着色剂应用于含药锭剂是为了外观易于识别, 阻止物理降解。染料和其他有机着色剂加热和光照时, 因氧化、水解、光作用等而降解。选择着色剂前要考察其与药物、辅料的相容性和工艺条件。颜料供给商是目前着色剂注册状态信息的源头。

酸化剂加入含药锭剂通常是为了加强口味。常用的有

机酸有柠檬酸、苹果酸、反丁烯二酸、酒石酸。单用柠檬酸或者结合酒石酸是最常用的。含药锭剂中酸的另一作用是改变 pH 保持药物的稳定性。通常转化玉米糖浆剂 pH 为 5.0~6.0, 为改善口味加入有机酸降低 pH 至 2.5~3.0, 该 pH 下许多药物稳定性最好<sup>[3]</sup>。如果需要, 许多药物可以通过加入少量碱如碳酸钙, 调节 pH 至 7.5~8.0 以稳定药物。许多研究显示过度使用酸化剂, 低 pH (2.6~3.7) 导致羟基磷灰石中的钙和磷溶解<sup>[3]</sup>, 会增加锭剂对牙齿的溶蚀<sup>[4]</sup>。有报道过量使用柠檬酸和酒石酸会影响锌锭剂中锌的生物利用度<sup>[6,7]</sup>。另有报道西吡氯铵在以糖浆锭剂中的活性会受到 pH 的影响, 需要调节至 pH5.5 以上<sup>[8]</sup>。

要提高患者依从性, 必须改善口感, 这是决定非处方产品销售成败的决定性因素。含药锭剂中的香料必须与药物和辅料相容, 且能耐受制剂生产的严格条件。香料包含许多可以与辅料或药物反应、被热或光降解的化学物质, 如醚、酮、酯类均可与药物反应。香料-药物反应的典型例子有: 含伯氨基药物 (苯佐卡因、苯丙醇胺) 与含醛成分香料如樱桃红、香蕉黄等反应, 形成 Schiff 碱, 使药物降解和失效。为突出某一种口味而调节锭剂的 pH 也会导致一些药物的配伍禁忌 (如苯佐卡因)。

锭剂的最后一个重要考虑因素是由于形状或大小不合适、产生气泡或药物浓度不合格等产生的回收料的重复利用。若将回收料加热至适当温度, 可重复利用, 获得颜色、质地、锭剂基质成分或药物浓度合格的成品<sup>[9]</sup>。在含药锭剂基质中加入回收料前, 要调节 pH 至 4.5~7.5, 以避免过度或不可控的还原性糖的形成, 药物在加热循环过程中的稳定性也要考虑。

### 2. 加工方法

有三种糖基质制备用工具: 火锅、高速气压锅、真空锅。真空锅基于水在真空低温即沸腾被除去的原理, 适宜用来制备硬糖锭。糖溶液和玉米糖浆在 125~132℃下沸腾, 引入真空条件, 多余的水因物料的热量, 不需要进一步加热即沸腾除去, 产生的蒸汽通过真空泵冷却水降温冷凝除去<sup>[3]</sup>。

连续批处理容器装置包括自动糖溶解器、糖溶液和玉米糖浆储存器、计量泵、预处理锅和储存槽、真空泵和收集器<sup>[10]</sup>。预处理锅是标准蒸汽夹套壶, 具有的附加的热交换器可提供更好的循环和更大的热交换表面。为了使预处理完的糖浆在 1min 或者更短时间内具有希望的温度

(110~120℃),各成分(水、糖、玉米糖浆,和回收料)被传动装置控制的泵和计量装置加入<sup>[3]</sup>。短暂的停留时间显著降低了 Browning 反应,降低了转化糖的产生量(1%~2%)<sup>[11]</sup>。处理机器包括加热线圈、中间体室、真空室、流量阀、控制接收器的旋转装置、接收器、接收器旋转装置、旋转真空装置。在标准程序里,预处理 110~120℃的糖-玉米糖浆溶液通过安装在 135~150℃的蒸汽圆顶的铬镍合金加热线圈,线圈通向与大气压相通的中间室,糖浆自中间室喷射入由真空推动计量阀调节的真空室。这影响糖块的再脱水<sup>[12]</sup>,进一步增大了干燥物质的含量。可调节的计时器控制接收器的原理是物理加热会打开空气阀。装满的接收器会自真空盖脱离,通过弹簧激活的计时装置将其放置在真空锅前,原位置被空接收器替代<sup>[3]</sup>。接收器被糖浆泵控制,使所有物料质量相等。通过选择合适模型,每小时可生产超过 3000kg 的糖果。

替代下的接收器通过连续移动的不锈钢带,以预设的速度携带移离真空锅,使真空锅在连续工作。真空锅既有优点,也有局限性。优点是生产速度快、自动、因为物理特点寿命长、价廉。缺点是可控性小,在高温下加入香料,增大了不均一糖锭的产生。自齿轮计量的糖溶液和玉米糖浆到真空干燥制备糖锭基质的过程与前面描述的批处理过程相同。然而糖锭基质会细条状地持续分离出来,物料自锅体流出时,注射入预热至 50~60℃的香料,加入香料的糖基质滴至变速旋转的锥体顶被混合均匀。药物以溶液或分散体的形式被预热至 110~120.8℃,通过剂量泵计量加入糖基质内,然后糖基质沿斜槽滑至不锈钢带,在上面通过犁刀和滚筒混匀和确定大小。传送带的温度需要时可用可调的热水喷雾控制。酸化剂可被振动定量配药站加至糖基质中<sup>[9]</sup>,下面的步骤和批处理相同。

### 3. 糖基质生产

生产含药锭剂的第一步是制备糖基质,接着是加入药物、香料、酸化剂、着色剂等,最后锭剂成形。不考虑过程,含药锭剂包括糖基质烹制、混合、批形成、“绳”分筛、调节质量、锭剂成形、冷却、储存。

糖基质由液糖(67%糖)、玉米糖浆(液状葡萄糖 43°Be, 80%固体葡萄糖 43°Be)组成,比例约为 60:40。在控温下开始预处理,预处理的溶液转入蒸汽加热线圈,加热至沸腾,再转至产生最混合物的过渡室<sup>[3]</sup>。糖基质的最终水分含量应该大约为 1%,温度为 135℃,塑料状样。糖基质转入具刻度的容器,必要时物料质量可调节。

热稳定的着色剂在此时加入形成立方体或糊剂。着色的糖基质转至冷不锈钢冷却平皿进行混合操作。混合可以手工或机械进行,混合器具有一系列犁片和滚筒,或者具有两个臂、一个犁片和慢慢旋转的桌面。

混合桌面的温度保持在 40~50℃。混合时,香料、药物、酸化剂和回收料加入到糖基质中后,含糖糖基质转移至温板,平衡至温度均一。

糖基质被切割成可操作小块,适当调整,放入批形成

机器中。糖果形成需要平板、加热桌。圆柱状的糖锭加入批形成器后,使用批滚轮。塑料样物质进入圆锥状糖锭成形器,以设定的速度转移到分筛滚筒。批形成器与绳大小分检器同步<sup>[12]</sup>。为了保持在糖锭外壳不会裂缝的温度,批形成器要保持在 80~90℃<sup>[3]</sup>。

批形成器的高度和其中的物料量决定了糖锭自形成器到大小分检滚筒的绳样流动速度。大小分检器有一系列的连续变小成形滚筒。大小分检器滚筒直径的大小决定绳厚度,绳厚度决定糖锭的质量和大小。大小分检器为了防止糖锭因迅速冷却开裂,通常保持温度在 50~60℃<sup>[12]</sup>。

为了最终锭剂的形成,糖绳排出至成型机器。成型的锭剂转至传送带,传送带使其迅速冷却和振动,防止依然塑状的锭剂变形<sup>[12]</sup>。

为防止变形,锭剂成形后必须尽快冷却。糖锭通常在链或防水布组成的传送带上冷却。多条带冷却器设计成第一窄带(15~20cm 宽)运行速度与糖形成机器相同。在第一带末端,有扎碎机分开糖锭,将锭剂均一分散在较宽、慢慢移动的第二带上。第三带仍较宽,移动更慢,使锭剂有足够时间冷却至需要的温度(低于 35℃)<sup>[3]</sup>。

在大小分检操作中,含药锭剂在离开冷却带时被收集起来,转移至一系列通过轮尺调节的逆时针滚筒将其分离。大小分检操作会除去所有过大和过小的锭剂,保证产品的均一性。

合适大小的锭剂收集后储存在 15~20℃、相对湿度 25%~35%的空调房间内,直到产品质检单位将其清洁后包装。

近来随着锭剂生产技术的进步,有专利可连续法生产右美沙芬锭剂<sup>[13]</sup>。1997 年有专利<sup>[14]</sup>介绍了一种带滚筒的锭剂切割装置,滚筒上具有一系列切割片。1993 年有专利<sup>[15]</sup>描述了锭剂加料的分配装置,通过加料运送装置至“吃料”机器(如包装机)。

## 压制锭剂片

商业上,压片制备锭剂的方法没有生产硬糖锭的方法重要。实际上,锭剂片与传统片剂不同的只是口感、不崩解性质和溶解速度慢。与用来吞服和咀嚼的片相比,锭剂在舌头上维持溶解的过程中,相关的良好的口感、有或无相配的颜色、润滑和口感、在吞咽其溶解出成分的同时维持片剂在口内完整的物理因素,显现了其处方要求的不同。前面提及的药物通常是味苦、口感不好的化合物。要使这些药物在口内缓慢释放,与舌持续接触,对制剂方法提出了与其他剂型不同的要求。

### 加工和辅料

常规片剂制备的方法,如湿法制粒、干法制粒和干粉直接压片均可以应用于锭剂片的制备。然而,因锭剂片应在不崩解的情况下慢慢溶解,湿法制粒较合适,因为其可控性好。通过合理使用会阻滞释放的湿黏合剂,设计一

种具有合适溶解速度的处方是可行的。

缓慢溶解、润滑和口感良好的处方需要精心地选择辅料和合适的制备工艺,以保证控制变量处理得当。锭剂片生产中影响成品具有期望的性能的重要因素包括必要的粉体粒径和分布、具有合适的水分、达到合适的硬度。制备工艺开发和放大必须彻底考察以确定这些参数的合适指标。若采用了湿法制粒,必须研究润湿的程度、速度和干燥的程度。过度湿润往往会产生过硬颗粒,导致可压性差、片剂过软或过脆,不符合锭剂要求。因为颗粒变形程度较低,会使片剂具有砂砾感。过度湿润时,为了达到希望的水分而需要过长的干燥时间,若通过调节干燥循环不能补偿会导致水分过高。

锭剂片剂通常具有相对较大直径(>12.5mm)、平面(斜面边缘)、较重(>700mg)和较大的硬度(>15kp)。这些物理特点使锭剂在口腔内使用容易并可缓慢溶出。主要影响片剂溶出、硬度和口感的制剂因素包括好硬度、溶出阻滞黏合剂和不含崩解剂。几种常用的黏合剂<sup>[16~18]</sup>符合这些要求,还具有在咽喉黏滑的作用。

明胶(以10%温水溶液的形式)和阿拉伯胶(水黏液的形式)在湿法制粒时可以形成具有缓慢释放特点的硬片。瓜尔胶以触变水溶液形式使用时,呈现出和阿拉伯胶同样的行为。

锭剂片剂常用的糖基质是蔗糖或者可压性糖、右旋糖、甘露醇和山梨醇,这些辅料具体压片级别都可以由不同生产商提供。通常供直接压片用,也可以采用湿法制粒中应用的黏合剂。乳糖,由于其甜味极低(仅是蔗糖的15%),还需要加入足够量的人工甜味剂以克服其味淡的缺点,所以在锭剂中的应用受到限制。木糖醇相对较甜,在锭剂处方中还有不导致龋齿的优点。

人工甜味剂对于锭剂非常重要。如上面所提及,一些糖的甜味不足以掩盖一些药物的苦涩或酸味。现在关于这些材料,世界范围内的法规差异很大。有的在某些国家批准,而其他国家禁止使用。阿司帕坦、乙酰磺胺酸钾、环己氨基磺酸盐、糖精和羟糖铝技术上可行,但选择时需要关注相关法规,它们都具有强味(甜度),比蔗糖甜度高得多,使用非常低的浓度(小于1%)即可以掩盖药物的苦味。甘草属的衍生物的半合成甜味剂在过去的时间里受到了一定程度的欢迎,它比蔗糖甜得多,但没有糖精甜。建议应用某种甜味剂于具体产品和某国家市场前,要使其符合现行的法规要求。另外最近有报道,普通的润滑剂,硬脂酸镁会降低西吡氯铵在压制锭剂片中的效能,此辅料在处方中的浓度不要大于0.3%<sup>[19]</sup>。

## 质量控制

锭剂和其他剂型一样需要质量保证和控制指标,因其独特的组分,还需要其他控制指标。

### 1. 过程中测试

对于硬糖锭剂,除了所有剂型通用的过程中评价外,

某些专门的操作是必需的。包括检查玉米糖浆和糖基质生产传动装置、温度、蒸气压力、预烹制器和锅的烹制速度,分析糖基质和其含水量,利用葡萄糖当量方法测定蔗糖-玉米糖浆比例、糖减少百分数(通过利用硫酸铜和碱性酒石酸二价铜与糖反应,用右旋糖溶液滴定)、pH、烹制糖批质量、锭剂质量和锭剂大小。压制片的常用制程测试适用于锭剂片压制,包括颗粒粒径分布、含水量、流动性、混合均匀性、片重、厚度和硬度等。

### 2. 批放行测试

除了常用的质量控制指标和上面的过程中测试,批放行测试包括剂型均匀性和砂砾测试。砂砾测试将锭剂在流动的自来水中部分溶解,大约除去1/3或1/2后,用拇指与食指搓时必须没有砂砾感。

应用于普通压制片的测试程序也适用于锭剂片。然而,因为锭剂要求在口内缓慢溶解,传统的崩解和溶出实验不适用。锭剂应不崩解,不需要崩解实验。锭剂应该建立基于物理溶解的最短和最长时间的溶出指标,而不是只基于在最长时间间隔内的最小释放百分数。与硬糖锭一样,应该进行微生物检验,尤其当工艺中采用湿法制粒处理材料和存在高浓度碳水化合物时更需要进行。

### 3. 稳定性

硬糖锭和压制锭剂片,稳定性高于通常对其他类型片剂的稳定性要求。锭剂产品应既符合物理化学规定,又具有合格的口感稳定性。因为锭剂是调味,口味的稳定性很重要。然而,尽管气相色谱可对调味剂中的化学成分进行分析,目前没有客观方法评价成品剂型中调味剂的稳定性,品尝等主观方法很难实现,因为要正式的味板来获得可信的数据。调味剂随时间发生的细微变化不会影响产品的特性,但可能会显著影响产品的市场接收度。片剂硬度的微小变化(增大或降低)会影响溶解时间,进而影响市场接收度,这也是事实。

## 包装

含药锭剂,尤其硬糖锭基质组分,由于其独特的辅料具有吸湿性。为了市场竞争,锭剂需要长于3年的保质期。因此,锭剂通常用防湿聚合物材料单独包装。包装的锭剂放入密封防潮的玻璃、聚氯乙烯或用玻璃纸或铝箔包装的金属容器中。复杂多重包装的目的是最大限度地提高防潮能力,实现最长的保质期。

## 总结

锭剂是设计在口腔和咽喉局部释药的含药糖膏剂,作为非处方药物被广泛使用,也有市售的处方类锭剂药物。锭剂常用来释放局部麻醉药,用于治疗感冒和过敏药物、抗微生物药物、戒烟药物、防龋齿药物。锭剂通常以烹制

的硬糖基质形式,以蔗糖和玉米糖浆或山梨醇为材料,与其他药物剂型的辅料和制备方法完全不同,因此需要专门的设施。压制糖锭片与市售传统片不同,需要其材料和方法能使药物缓慢地溶解和释放。

诸多原因导致锭剂仅由少数制药企业生产,占药物销售总额的百分比非常小,目前预测在此领域不会有显著的增长。

### 参考文献

1. United States Pharmacopeia 24/National Formulary 19; United States Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville, 1999.
2. Non-Prescription Drug Products; Formulations & Features; Knodel, L. C., Ed.; American Pharmaceutical Association; Washington, 1998.
3. Peters, D. Medicated Lozenges. *Pharmaceutical Dosage Forms; Tablets*, 2nd Ed.; Lieberman, H. A., Lachman, L., Schwartz, J. B., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 1, 419—463.
4. Lussi, A.; Portmann, P.; Burhop, B. Erosion on Abraded Dental Hard Tissues by Acid Lozenges; An In Situ Study. *Clin. Oral Investig.* 1997, 1 (4), 191—194.
5. Grenby, T. H. Dental Properties of Antiseptic Throat Lozenges Formulated with Sugars or Lycasin. *J. Clin. Pharm. Ther.* 1995, 20 (4), 235—241.
6. Marshall, S. Zinc Gluconate and the Common Cold. Review of Randomized Controlled Trials. *Can. Fam. Physician* 1998, 44, 1037—1042.
7. Garland, M. L.; Hagmeyer, K. O. The Role of Zinc Lozenges in Treatment of the Common Cold. *Ann. Pharmacother.* 1998, 32 (1), 63—69.
8. Richards, R. M.; Xing, J. Z.; Weir, L. F. The Effect of Formulation on the Antimicrobial Activity of Cetylpyridinium Chloride in Candy Based Lozenges. *Pharm. Res.* 1996, 13 (4), 583—587.
9. Clarke, W. T. The Re-use of Chocolate and Confectionary Rejects. *Manuf. Confec.* 1975, 55 (6), 37—40.
10. Meiners, A. Incorporating Flavor and Acid in Continuous Manufacturing Systems. *Manuf. Confec.* 1973, 53 (10), 58—59.
11. Hartel, R. W. Sugar Crystallization in Confectionary Products. *Manuf. Confec.* 1987, 67 (10), 59—65.
12. Technical Bulletin. Machines, Production Lines and Process Technologies for the Confectionery Industry; Robert Bosch Corp.; Bridgman MI, 1998.
13. Dextromethorphan Continuous Lozenge Manufacturing Process, US Patents, 302, 394, April 12, 1994.
14. Lozenge Cutter Apparatus US Patent 5, 676, 982, Oct 14, 1997.
15. Distributing Device for Feeding Flat Products to a User Machine, US Patent 5, 199, 546, April 6, 1993.
16. Peck, G.; Bailey, G. E.; McCurdy, V. E.; Banker, G. S. Tablet Formulation and Design. *Pharmaceutical Dosage Forms; Tablets*, 2nd Ed.; Lieberman, H. A., Lachman, L., Schwartz, J. B., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 1, 98—107.
17. Bandelin, F. J. Compressed Tablets by Wet Granulation. *Pharmaceutical Dosage Forms; Tablets*, 2nd Ed.; Lieberman, H. A., Lachman, L., Schwartz, J. B., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 1, 160—164.
18. Mendes, R. W.; Anaebonam, A. O.; Daruwala, J. B. Chewable Tablets. *Pharmaceutical Dosage Forms; Tablets*, 2nd Ed.; Lieberman, H. A., Lachman, L., Schwartz, J. B., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 1, 362—387.
19. Richards, R. M.; Xing, J. Z.; Mackay, K. M. Excipient Interaction with Cetylpyridinium Chloride Activity in Tablet Based Lozenges. *Pharm. Res.* 1996, 13 (8), 1258—1264.

(陈卫译)

## 定量吸入剂

Sandy J. M. Munro

Alan L. Cripps

GlaxoSmithKline, Ware, Hertfordshire, United Kingdom

## 引言

定量吸入剂 (metered dose inhaler, MDI) 是用于口腔或鼻腔的给药系统, 是间歇的气雾化呼吸道给药。MDI 为活性物质溶解或混悬于抛射剂中, 并装于密封加压的配有定量阀的容器内。阀门启动后喷出定量的雾化药物, 在口腔或鼻腔吸入时气雾剂喷射。

每个 MDI 可以有高至几百次的喷雾, 每次喷雾一般为  $10 \sim 500 \mu\text{g}$  的药物分散于  $25 \sim 100 \mu\text{L}$  液体中, 喷出的液体经过抛射剂的快速气化, 产生均匀分布的喷雾。由药物沉积而产生的临床疗效, 主要依赖于吸入颗粒的量, 其颗粒应有适当的空气动力学直径, 通常小于  $5 \mu\text{m}$ , 才能沉积在肺组织上 (可吸入部分)<sup>[1]</sup>。

首个 MDI 产品在 Riker 实验室诞生, 于 1956 年上市, 所用的是有专利权的新型定量阀。目前在大多数国家, MDI 已成为支气管哮喘和慢性阻塞性肺病 (COPD) 吸入治疗药的主要剂型。自从其生产以来, MDI 技术在稳步发展, 然而随着氟利昂 (CFC) 作为 MDI 的主要抛射剂在市场上的逐步退出, 抛射剂转为氢氟烷 (HFC), MDI 技术发展加快<sup>[2]</sup>。

尽管 MDI 使用非常简便, 但其装置复杂, 包括药物处方、容器、定量阀和致动器的一体化结构 (图 1)。改变其构成的任何部分都将影响 MDI 的最终功能, 这种设计是为保证给药剂量和药物在气雾剂中分布的颗粒大小均匀一致, 符合 MDI 标示的喷雾次数和储存期的要求<sup>[3]</sup>。

MDI 的设计和评价可见参考文献 [4~7]。

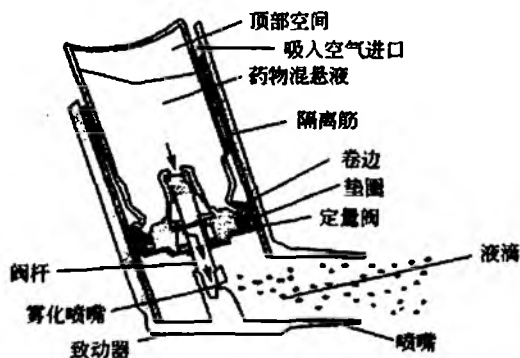


图1 MDI的内部结构剖面图

## 抛射剂

在 MDI 中使用的抛射剂或抛射剂混合物为适用于肺或鼻腔给药提供了必要的能量, 以便使用时产生较细的雾化药物颗粒。吸入治疗中, 优先选用能液化的压缩气体而非不能液化的压缩气体, 如氮气或二氧化碳, 因为它们具备以下关键的优点:

- 从 MDI 喷出的设定好的部分抛射剂将会很快气化以产生很小的雾化颗粒。

- MDI 内压在全部药物用完前保持不变, 因而在反复的使用中其喷雾特性保持均匀一致。在恒定温度下, 只要液化的抛射剂存在, 气体压力将保持不变。而非液化的压缩气体产生的气雾剂随定量吸入剂减少而药物颗粒变粗。

然而, 不像被压缩的非液化气体, 液化抛射剂的蒸气随温度下降而显著下降, 这样在特定温度下, 快速气化过程将充分延迟, 以不能形成气雾。对于 MDI 通常使用的抛射剂, 在  $0^\circ\text{C}$  以下时气雾剂可能并不理想。

用于 MDI 的理想抛射剂应具有以下特性<sup>[3]</sup>:

- 无毒;
- 是惰性的, 在处方中不发生反应;
- 在一定条件范围之内具有化学稳定性;
- 高纯度;
- 口味和气味可接受;
- 与包装材料 (容器、阀门、致动器) 相容;
- 具有合适的蒸气压;
- 具有合适的密度, 易于产生混悬稳定性;
- 具有合适的溶解特性;
- 相对不易燃烧;
- 成本可接受。

最近几年前, 在世界范围内一直只有三种 CFC 抛射剂可用于医疗上的 MDI, 即 CFC-11、CFC-12 和 CFC-114 (表 1), 由于其性能从本质上满足理想抛射剂的特性而被广泛接受。目前上市的全部 CFC 的 MDI 采用 CFC-12 为主成分混合 CFC-11, 或 CFC-11 和 CFC-114 的混合物, 这些混合抛射剂符合 Raoult's 法则, 所选择使用的混合物能得到设定的蒸汽压 (表 1)。制剂中含有 CFC-11 的优点还表现在: 能增加大多数抛射剂系列的溶剂化能力, 这在混悬液制剂中使其可以使用能促进药物分散的表面活性剂。由于 CFC-11 具有在  $24^\circ\text{C}$  以下是液体的优点, 可作为分散介质的首选, 用于混悬液, 或用于溶解药物。

表 1 氟碳化合物推进剂和二甲醚<sup>1)</sup>

抛射剂	分子式	相对分子质量	沸点 (101.3kPa) /℃	蒸气压 (21℃) /bar	液体密度 (21℃) / (g/cm <sup>3</sup> )	空气中允许 的限度/%
CFC-11 <sup>2)</sup>	CCl <sub>3</sub> F	137.4	23.8	-0.1	1.49	NF <sup>3)</sup>
CFC-12 <sup>2)</sup>	CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	120.9	-29.8	4.84	1.33	NF
CFC-114 <sup>2)</sup>	CClF <sub>2</sub> Cl	170.9	3.6	0.89	1.47	NF
CFC-115 <sup>2)</sup>	CClF <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	154.5	-38.7	7.10	1.31	NF
HCFC-22	CHClF <sub>2</sub>	86.5	-40.8	8.37	1.21	NF
HCFC-123	CF <sub>3</sub> CHCl <sub>2</sub>	152.9	27.1	0.79	1.47	NF
HCFC-124	CF <sub>3</sub> CHClF	136.5	-0.11	2.28	—	NF
HCFC-141 <sup>2)</sup>	CCl <sub>2</sub> FCH <sub>3</sub>	117.0	32.1	0.69	1.24	7.6~17.7
HCFC-142 <sup>2)</sup>	CH <sub>3</sub> CClF <sub>2</sub>	100.5	-9.8	2.00	1.12	6.0~15.0
FC-C-318	C <sub>4</sub> F <sub>8</sub> (cyc.)	200.0	-5.8	1.75	1.51	NF
HFA-125 <sup>4)</sup>	CF <sub>3</sub> CHF <sub>2</sub>	120.0	-72.8	11.4	—	NF
HFA-134a <sup>3)</sup>	CF <sub>3</sub> CHFCF <sub>3</sub>	102.0	-26.7	5.59 (20℃)	1.22	NF
HFA-152a <sup>3)</sup>	CH <sub>3</sub> CHF <sub>2</sub>	66.1	-23.9	4.35	0.91	3.71~18.0
HFA-227 <sup>3)</sup>	CF <sub>3</sub> CHFCF <sub>3</sub>	132.0	-17.0	3.99 (20℃)	1.41	NF
DME <sup>4)</sup>	CH <sub>3</sub> OCH <sub>3</sub>	46.1	-23.7	4.35	0.66	3.4~18.2

1) 基于 E. L. du Pont de Nemours 公司数据, 除了 HFA-134a 和 HFA-227。

2) 大多数国家允许用于特定的 MDI 品种。

3) NF 表示无臭氧层消耗 (ODP), CFC-11 的 ODP 设为 1。

4) HFA 为氢氟烷, DME 为二甲醚。

1974 年, Rowland 和 Molina<sup>[9]</sup> 发表了其猜想, 即 CFC 可能导致臭氧层的损耗, 随后实验证实这一理论, 达成了—一个国际性的关于减少使用损耗臭氧层物质的 Montreal 协议<sup>[10]</sup>, 制定了逐步退出 CFC 的生产和使用的时间表。虽然吸入剂消耗 CFC 对臭氧损耗可能无关紧要, 在 1986 年约占世界范围的 CFC 消耗的 0.4%<sup>[11]</sup>, 制剂工业还是从 1987 年就开始寻找替代的抛射剂, 以取代 CFC 在 MDI 中的使用。确定用于医疗气雾剂的 CFC 替代品的安全性和适宜性, 是一个漫长而复杂的过程。结果证明在 MDI 中 CFC 的使用是必需的, 在过渡期内一直免受 Montreal 协议的监视。

在寻找低的或零臭氧损耗能力 (ODP) 的抛射剂的过程中, 开展了对很多有潜力的化合物的鉴定, 由此成立了许多化学行业团体, 按替代品氟碳化合物毒性测试规程 (PAFTT), 对最有希望的候选物进行了急性毒性研究<sup>[8]</sup>。

尽管 HCFC 系列仍具有臭氧损耗能力, 但还是被考虑使用, 例如, HCFC 22 在技术上可满意地替代 CFC-12, 然而, 1990 年 Montreal 协议的修改版要求 HCFC 系列在 2020 年前逐步退出使用。

通常气雾剂中常用的烃类, 如异丁烷, 尽管其纯度较高, 但其气味和易燃性妨碍了其在医疗气雾剂上的应用, 目前其无味可以达到使用的要求。二甲醚 (DME) 同样因为具有零臭氧层损耗及对各种有效成活性成分有较好的溶

解性及与水可混合性——这在制剂的处方中很重要, 也在使用。然而, 烃和 DME 二者的高易燃性需要昂贵的设备改进, 以便使气雾剂能安全制造、储藏、运输。详细的燃烧试验表明, 这类抛射剂吸入使用时的定量体积很小, 其易燃性没有太大危险<sup>[12]</sup>。作为抛射剂使用的另一挑战是, 因为与大多数药物相比其相对密度较低, 烃和 DME 二者在 MDI 混悬制剂中将使混悬剂的稳定性不佳, 导致潜在的给药剂量不均一。

在认可的替代品中, 氢氟烷 (HFA) 或 HFC 在 MDI 中已作为 CFC 系列替代品的发展目标。在这种情况下, 两个制剂公司学会分别测试了 HFA-134a 和 HFA-227ea 用于吸入的毒性: IPACT (国际制剂气雾剂毒性测试学会) 1 测试了 HFA-134a, IPACT 2 测试了 HFA-227ea。建立在两种抛射剂的安全资料基础上, 医药产品资产委员会 (CPMP) 推荐其在 MDI 中使用<sup>[13]</sup>。

HFA-134a 的蒸气压比 HFA-227ea 的高, 但是两者都被视为 CFC-12 的替代品。目前, 还没有已认可的取代 CFC-11 的合适替代品。在一些使用 HFA 的 MDI 中, 乙醇作为增溶剂在替代 CFC-11 中增强了表面活性剂的溶解性。尽管 HFA-134a 和 HFA-227ea 满足了 MDI 抛射剂的许多理想的要求, 但 HFA 的溶剂特性与 CFC 系列有显著差异, 所以已发现在使用 CFC 的 MDI 中应用的表面活性剂是不相宜的, 因此, MDI 成功使用 HFA 需要解决几个重要的技术问题<sup>[3]</sup>。

## 处方

通常,MDI需要的形式是混悬或溶液,传统首选的途径是在液体抛射剂(CFC或HFA)中制备微粉化药物的混悬液。有时,外加赋形剂[如表面活性剂和(或)增溶剂]以改善药物微粒分散体的质量,各种MDI处方的选择将在后面详述,并将描述加入药物的替代品选择。

### 1. 基于CFC的MDI处方史

MDI通常由微粉化药物与不同比例的抛射剂CFC 12和CFC 11和(或)CFC 114混悬构成。通常添加表面活性剂,通过降低絮凝和沉淀的速度或者乳化,并降低药物在阀和容器内表面上的沉积量以改善混悬效果<sup>[4]</sup>。加表面活性剂提高混悬性能和减少内部的药物沉积,使阀门的取样量及因此引起的给药剂量更可靠。一些CFC吸入剂产品也制成溶液<sup>[14]</sup>,通常是药物加入少量乙醇溶解。混悬剂和溶液制剂二者的优劣性在后面将详细讨论,包括基于HFA的MDI处方的优化<sup>[15]</sup>。

### 2. HFA的MDI处方

#### 2.1 加入的药物

用于混悬液的MDI微粉化药物通常是用空气驱动流能磨制备的,目前市场上其仍然是用于制备MDI混悬吸入剂的主要方法。

近年来人们认识到,为了生产合适大小的物料颗粒用于吸入剂,微粉化工艺是有效的方法,其过程是随着颗粒与颗粒间的碰撞和摩擦,颗粒的大小逐渐减小,但是这种方法也可能给生产的药物颗粒带来一些不希望的特性。

因为微粉化过程受到限制,目前正在研究其他各种制造颗粒的工程技术<sup>[16,17]</sup>,以期可以提供更优质的微粉化药物用于MDI生产。其中的一些技术,例如,SEDS(超临界流体促进分散的方法)<sup>[18]</sup>有赖于不同的结晶技术——直接从需要的药物溶液中结晶出恰好需要的表面特性和大小的药物颗粒,而不需要高能的微粉化过程;其他技术,如喷雾干燥技术生产的颗粒具有质量控制所要求的相对密度、多孔性、颗粒分布大小和形态,并可用于含有其他固体赋形剂复合处方以生产出符合质量控制要求的药物颗粒,如有缓释特性及潜在的肺内局部沉积<sup>[19,20]</sup>,颗粒工程技术同样能加快满足日益苛刻的管理当局的要求<sup>[21,22]</sup>。

#### 2.2 HFA MDI的溶液配方

在HFA的MDI处方中,药物完全溶于使用的HFA抛射剂(如134a)及适当的增溶剂中以制成真溶液。增溶剂最常用的是乙醇,这种方法一直成功用于BDP处方气雾剂的生产<sup>[23]</sup>。这种制剂有多项优点:

- 阀从均匀的大体积储器中吸样时,很少有潜在的问题;

- 正如在BDP处方气雾剂的情况中一样,可提高雾化效率,与等量的混悬剂相比,有更多的药物在肺部沉降;

- 药物在抛射剂中有相当好的溶解性,克服了混悬剂体系里的问题,如避免了药物颗粒的长大;

- 只要始终有足够的增溶剂存在,在阀部分和容器内就不会有药物沉淀;

- 比混悬型HFA的MDI灌装过程简便。

真溶液MDI产品也有一些不足之处:

- 与等量的混悬剂相比,溶液剂更容易进入阀的橡胶部分,导致药物损失,这种情况的药物损失可能造成产品剂量不足。

- 目前在增溶剂方面除乙醇外的其他选择不多,乙醇一向被视为公认安全(GRAS)的产品。因而用非乙醇的增溶剂配制溶液时,必须经过广泛的毒性试验。目前可用的呼吸道药物中,很好溶解于乙醇中的药物很少,或者说容易制成溶液的情形很少。

- 如果溶解药物用的乙醇过多,蒸气压会低于标准的要求,不能使药物有效地雾化分散。

- 如果要生产的药品是基于CFC混悬剂转换而来,制备与CFC混悬剂同样质量的颗粒、颗粒大小分布和(或)吸收特性很难。这会导致CFC产品的完美替换出现问题,因为有可能改变给药剂量,产品的气味以及感觉与起初的混悬剂处方不一样。

最近,其他(挥发性较小的)有机的改善剂如甘油,加到基于HFA的MDI的溶液中,改进颗粒大小分布,以使它与原混悬剂更接近<sup>[24]</sup>。

#### 2.3 HFA的MDI混悬剂处方

混悬剂制备可采用多种可能的方法,微粉化的药物能简单地混悬于HFA抛射剂或混合HFA抛射剂中,这种制剂的主要优点是简单,并不含有其他赋形剂具有的毒性。这一简单处方的性能是由药物固有的属性和使用的抛射剂决定的。例如,如果药物的相对密度明显高于抛射剂,混悬剂混匀后容易迅速产生沉降,这就导致通过阀从容器内取样时可能有均匀性问题。在药物和抛射剂的疏水性和亲水性上的较大差异会导致振摇后快速絮凝,或产生药物沉积于MDI容器壁和阀部的倾向。为达到药物在抛射剂中有效分散,从本质上讲药物不能溶解于抛射剂,以保证产品的稳定性。其处方也应具有合理的特性,例如,混悬剂容易被再分散,以使在一定时限内,即在患者振摇与吸入时,从混悬剂内容物通过阀取样时均匀一致。药物沉积于容器内表面和阀的问题应以巧妙的包装技术加以避免,例如,在罐体内涂层使很多药物成功地制成MDI。

基于CFC的混悬制剂,通常含有表面活性剂。有多种表面活性剂可用于该系统,如卵磷脂、油酸、山梨聚糖三油酸酯<sup>[14]</sup>。所有这些表面活性剂极易溶解在CFC抛射剂中,并能在一定程度上控制混悬的特性,控制絮凝、沉淀和乳化的速度,以及使在容器内表面的沉淀最小。MDI中的抛射剂转换为HFA时,就遇到了一些严重的问题,因为

## D

以前用于 CFC 产品的任何一种表面活性剂都不能溶于 HFA 单一抛射剂中。一些制剂仍使用这些表面活性剂,但是需要加入增溶剂乙醇以使表面活性剂溶解。

除了 HFA 处方中使用传统的表面活性剂加增溶剂外,也有一些研究工作来确定与 HFA 抛射剂一起使用的新的表面活性剂分子的性质,同样,至今还没有成功研究出具有合适特性的分子来控制混悬剂的特性,同时还需要具有足够的毒理学资料。

在 HFA 处方中使用的抛射剂,一个有趣的替代方法是制备药物颗粒,多孔的药物/赋形剂颗粒可通过喷雾干燥技术制备。将药物颗粒的相对密度与液体抛射剂的相匹配,使制剂具有理想的混悬特性在理论上是可行的<sup>[19]</sup>。

## 容器

对用于 MDI 容器的本质要求是它们必须适合于该制剂,能耐受内压 1500kPa,用可再生的材料制造产品。最广泛使用的 MDI 容器用铝合金制造,玻璃瓶子也有使用。首选铝容器是由于它们质量轻、坚固、抗破碎、密封好、蔽光。铝罐主要有两种(图 2):切边罐和包边罐。切边罐是制造 MDI 最常用的,其制造过程是通过拉深成形而产生锐边(图 3)。制成后,用溶剂和水性清洁剂洗涤,去除在拖曳过程中残余的用作滑润剂的油迹。包边罐通过碰撞挤压高纯度铝制成,多余的材料被裁去,罐颈从外面包卷而成。拉深成形工艺作为首选是因为罐具有更准确的统一质量和壁厚度,有利于 MDI 制造过程中的装量控制。尽管用于 MDI 的铝罐对抛射剂通常有较好的适用性,但为防止药物在罐内壁降解或药物沉积,需要在内壁涂层。可以应用适当的环氧树脂或酚乙烯类涂层<sup>[25]</sup>,对于 HFA 抛射剂系列建议用更加新的材料,即以含氟聚合物为基础的低表面能涂层<sup>[26]</sup>。

由于质量重和可能易碎,玻璃瓶没有被广泛使用。用于加压液化抛射剂的玻璃容器外表有塑氯乙烯(PVC)涂层,以免发生破损时留住玻璃碎片。以往玻璃瓶可能是用于含乙醇和 CFC-11MDI 的首选。自由基反应产生的氯化氢会导致铝罐的侵蚀<sup>[27]</sup>。

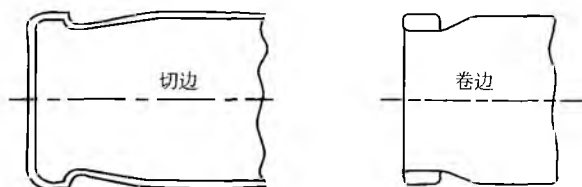


图 2 MDI 使用的铝罐种类

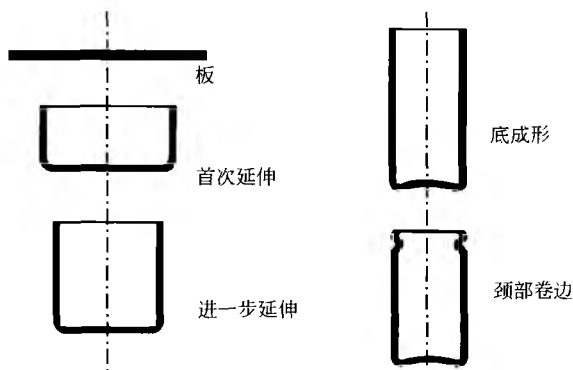


图 3 通过深度延伸工艺制作铝罐的步骤

## 定量阀：设计和功能

定量阀的首要功能是能重复、准确地量取小体积的含药抛射剂,其次能有助于密封,使抛射剂的泄漏最小化。市场上用得最多的 MDI 产品装配的定量阀是阀下移,这样不需要浸管。典型的 MDI 定量阀由两个耦合的阀组成,分别位于定量体积的定量室的两侧<sup>[28]</sup>。当压下阀杆时,前外部的“阀”打开,让药物射入定量室,内部的“阀”关闭,以隔离容器中的药物。这一次序的颠倒将致“持续喷雾,”使患者处于过量用药的危险。阀的定量功能是质量控制的关键部分,定量阀的连续操作图解见图 4。

定量阀由多个的必需部件构成(图 5),每个部件具有其特定的功能(表 2)。阀最显著的特征为两个密封圈或基

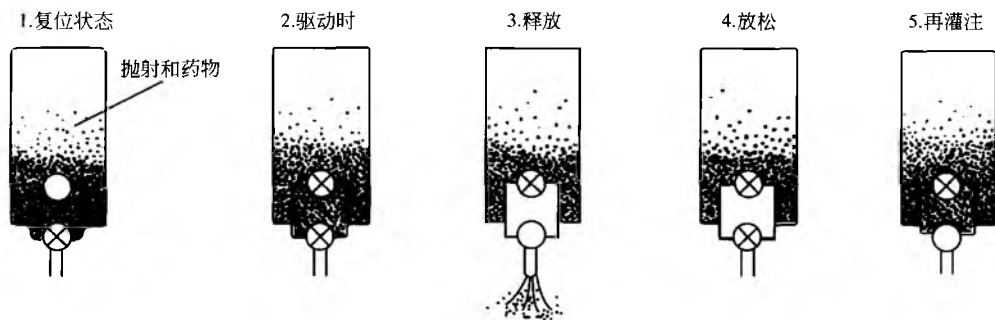


图 4 气雾剂阀的操作



座，它们由定量室分开，定量室为由主杆、主体和密封圈构成的空间。圆柱的主杆穿过扁平的人造橡胶密封圈，在沿轴向移动主杆时，产生动态的密封。除了铝金属环外，其他任一部分都是由不锈钢或合适注模的塑胶——如尼龙、缩醛树脂或聚酯压成，它们在与抛射剂接触时，能保持大小稳定。主杆回弹弹簧由不发生变化的不锈钢制成。完好的表面和各部件大小的精细控制及恰当的装配是保证良好阀功能的关键。

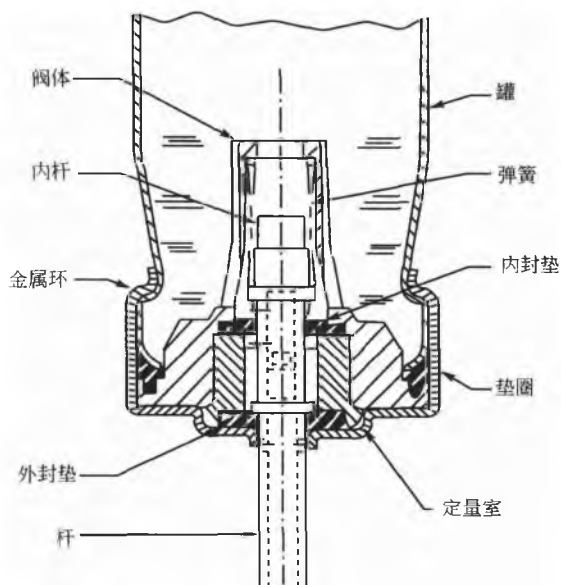


图5 定量阀的结构

表2 构成阀的各部分的作用

组成部件	作用
密封垫	用于容器与阀之间的密封，通常由橡胶制成
金属环	杯状铝制品，将阀各部分固定在一起，以卷边固定容器上
杆	阀的移动部分，连接阀与致动器，其设计是为定量室提供进出口，重复加入或喷出一定的剂量
基座	提供绕阀主杆的主要密封，通常由橡胶制成。多数的阀有两个基座供定量之用
弹簧	在喷雾后，固定阀主杆，并使复位于静止时的位置，可位于定量室内或室外
定量室	确定喷出液体的体积，阀的常规体积有 25 $\mu$ L、50 $\mu$ L、63 $\mu$ L 和 100 $\mu$ L

阀与容器之间由平滑切口或“O”形环的橡皮密封垫隔离，由铝阀的卷边箍在容器瓶颈部。在装药过程中，卷边通过控制卷曲高度和直径来调节以保证垫圈充分的压缩空间。最佳卷曲参数能保证阀的正常功能和抛射剂的泄漏最小化。

## 橡胶部件

定量阀的橡胶密封部件特别关键，在使用 CFC 抛射剂的阀中，人造橡胶的密封通常采用硫磺处理的丙烯腈/丁二烯橡胶压成，此橡胶封盖可能不完全适合于 HFA 抛射剂，因此，可选择其他人造橡胶材料，这些材料包括经过氧化物处理的丙烯腈/丁二烯橡胶、乙烯-丙烯二烯的单体（EPDM）、氯丁二烯和热塑性的人造橡胶（TPE）。人造橡胶材料应用于隔离容器与阀的主杆周围的动态密封及垫圈的静态密封，根据用于特定功效的密封需要差异，橡胶的特性也不同<sup>[29]</sup>。密封人造橡胶的最重要特性包括其组成和处理的程度，这决定了其物理性质和在原位膨胀的特性、抛射剂和药物的相容性、药物吸附的亲性和、大小和表面抛光以及释放异物微粒和可被溶出物质的可能性。CFC 和 HFA 两种抛射剂的增溶剂特性是：在 MDI 储藏期间从人造橡胶中溶解出的物质很少，这并不代表任何安全性理由，且其溶解物可用溶剂浸泡人造橡胶密封垫来进一步减少。也可以选择人造橡胶的密封材料，以部分影响 MDI 储藏期间的其他变化，在常规储藏条件下，湿气将透过人造橡胶的密封圈扩散到 MDI 中，其速度和量有赖于环境条件和人造橡胶的材料性质，其水蒸气透过性会产生显著差异<sup>[30]</sup>。

抛射剂从 MDI 中泄漏是此产品的特性，且从主杆密封圈和阀的密封垫处发生扩散。泄漏速度因环境温度的升高而增大，特定抛射剂与橡胶结合的倾向与橡胶膨胀成正比。抛射剂从 MDI 中泄漏升高了药物在液体中的浓度，因此增加给药的剂量，可能缩短产品储存期。此外，过多的泄漏可能达不到 MDI 标签上标示的给药喷雾次数。

## 致动器和间隔室

### 1. MDI 基本致动器部件的概况

对于简单的 MDI，致动器是一整块由塑胶制模铸成的，在整个装配系统中作为一个关键构件执行多种重要功能。致动器的主要塑胶体部分环绕并保护雾化药瓶、致动器内的细管，有助于药瓶的定位，在被患者加压时释放一定剂量，药瓶向下直移而不会扭曲阀主杆。其高度扭曲时可能导致喷雾功能不良，如在阀连续喷雾时。细管在致动器内有助于药瓶的中心定位，使产生的气流阻力最小化，在患者吸入时容易通过<sup>[67]</sup>。一些典型的 MDI 致动器如图 6 所示。

致动器与装有喷雾口的主杆配套，主杆部有牙槽，当药瓶置于致动器内时，阀主杆可以压进。槽与阀主杆紧密结合在一起，在携带过程中不存在药瓶脱离致动器问题，同样完整的剂量可从喷雾孔喷出，不会漏回阀主杆侧而沉积在阀金属箍上。致动器的决定性关键部分是喷嘴，其设计应使患者容易将其密封，通过装置可吸入空气和药物。

## D



图6 典型的MDI致动器

喷嘴设计应该使用药时喷嘴处的药物沉积最小化。通常通过阀给药的10%~20%剂量沉积在致动器上,因此这样的给药不理想。喷嘴设计通常是考虑模型简便易铸、患者使用方便及易于密封、小而轻便,有可接受的给药特性等。MDI的最大优点是小、轻、易携带和可不连续使用。大而复杂的设计可能具有优良给药的特性,但对生产商来说可能太昂贵,对患者没有吸引力。MDI致动器部分的进一步设计是防尘盖,最常见的是单独的塑胶膜,可随时套在致动器主体上。防尘盖的主要用处是在携带时防止异物进入喷嘴和阀主杆区域。此区域的异物或在患者用药时被吸入,或可在吸入时堵塞喷口。典型的致动器主杆部的详解见图7。

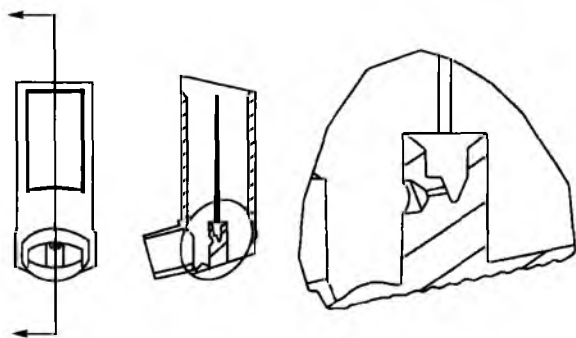


图7 MDI致动器杆部件详图

对简单的MDI致动器,喷嘴和阀主杆槽通过金属针进入主杆部,是致动器的构成部分,通过铸模制成,对关键的部分保持精确的尺寸控制是必须的,以保证无泄漏和在需要时准确持续地喷雾。目前已研究了各种喷口直径、长度和扩充体积(在中间定量室和实际的喷雾嘴间的体积,主要是阀主杆内的体积)的结合。实际上,喷口直径范围在0.2~0.5mm。小口径将产生较细的颗粒,但延长了给药的时间,且更容易阻塞<sup>[31]</sup>。致动器参数不能单独进行优化,其设计必须与具体的定量阀、容器和处方相结合、相协调<sup>[32]</sup>。

## 2. 间隔室

如前所述,最简单的MDI致动器是便携、廉价和高效的结合。当使用简单的MDI时,在口腔咽喉部会产生一定剂量的沉积物,这是因为当药瓶被压下取得一定给药剂量时,喷雾自动在致动器孔产生,其速度很快。因为空间不足,在碰到咽喉后壁或口腔咽喉等其他部位前不足以让雾化药物减速。小体积简易间隔室(70~150mL)可用于扩展喷嘴,为产生气雾减速提供空间。此装置或安装于简单的经典类型致动器,或作为完整的致动器/间隔室设计的一部分,能展开使用<sup>[33~37]</sup>。因为有更多的时间让气雾减速,这样显著减少了在口腔咽喉部沉积的药量<sup>[35]</sup>。因此,更多的药物会沉积到肺上,但是减少的大多数本应沉积在咽喉的部分药物会沉积于装置/间隔室上。用简单间隔室的主要好处是改善了因吸入类固醇沉积造成的口腔咽喉部的刺激和声音嘶哑<sup>[34,38]</sup>。

## 3. 间隔室/暂留室

除了已述的简单间隔室,还有体积更大的间隔室(500~750mL)。这些装置拥有简易装置的全部优点。还能在患者吸入前能留下或暂留一定剂量。单向阀(或成对阀)可能共同进入喷嘴区域,以利于自然的呼吸周期,从而使患者呼气后吸入时通过间隔室,以吸入间隔室中的药剂。这些较大的间隔室对吸入致动器吸入时协调功能差的哮喘患者可能有益<sup>[33,34]</sup>,因为启动药瓶吸入一定剂量的动作不必与吸气相配合<sup>[39,40]</sup>。药物沉积随间隔室(室的宽度与长度)变小而增多<sup>[35,36]</sup>。间隔室内的沉积可能受定量阀大小和抛射剂构成的影响<sup>[37]</sup>。MDI的呼吸道给药通常与含有或没有大间隔室的情况相似,但其优点是在口腔咽喉部沉积较少,且与致动器的协调要求较低。

用于制造间隔的材料也是其发挥作用的关键,间隔装置带有静电,能显著影响其药物沉积量,并因此影响到患者吸收的剂量<sup>[41]</sup>。同样,间隔室的清洗或干燥方法也能导致静电的产生<sup>[42]</sup>。

## 呼吸致动吸入器和其他改进装置

MDI作为高效的肺部给药方法,成功用于呼吸道疾病治疗已有很多年。MDI对大多数人来说使用简单,但是一些特定的患者群体使用其可能有困难。

婴儿和年老者在协调致动器装置与呼气时有明显的困难<sup>[43]</sup>。有使用困难的患者可用干粉吸入器(通过装置吸入能产生药物释放和雾化的药粉,因而其使用不再是问题),或者给他们用呼吸致动吸入器(BOI)。

已有多种此类装置上市,它们仍是MDI制剂,但其装置需要在患者吸入时启动药瓶。通常是患者用药前其装置及时装药,装药或可通过打开尘帽露出喷嘴,或通过操作特殊启动平衡杆。对于市场流行的装置,当压缩气雾剂药瓶上面的弹簧产生足够动力就使容器中的药物释放,其装

置有扳机装置,当患者通过装置吸入用药时,药物就释放出来。扳机机制的药物释放通过环绕弹簧使 MDI 药瓶下压给药,而不需要患者的调节<sup>[44]</sup>。此装置虽然明显有智能性,但需要仔细装配,以保证在启动、振摇和用药模式改变时的使用,并可与其他装置部分协调,保证装置给药的均匀一致。

更多的 BOI 装置可能上市,它们可能是机械操作或电动操作。电动装置开辟了其他一些患者需要的特征,例如,计数器和数据记录。

## MDI 计数器

MDI 存在的重大问题是由于多数装置使用铝制药瓶,患者不可能准确知道药瓶中是否还有药。在用药前摇动药瓶可让患者知道还有制剂,但是这是很低级的方法。MDI 的装量应比标示喷数更多(过量装药)。因此,一个 200 喷产品实际上可装有 240 喷。这是因为:

- 在有效期内,装置总有一些泄漏。过量装药以全面保证在储存期末仍能达到标示的喷药次数;
- 在使用 MDI 过程中,当制剂水平变成很低时,其用药剂量可能存在一些变化,过量装药确保 MDI 在使用中完成全部的标示喷数;
- 制剂中有一部分是不能被使用的,在定量进样阀口沉积而不能从药瓶移出。

改用玻璃容器就能知道剩余多少药物,但是因为过量装药的因素总是使患者在用药超过标示的喷数后有药物剩余,同样的玻璃容器可能比铝制容器体积更大、生产成本更高。

替代透明容器的方法是吸入剂装上喷药计数器或水平指示器。水平指示器,就像汽车内的燃料标准尺,但显示不精确。数字计数器可以让患者明确地知道剩余药量,可优先选用。当用了标示喷雾次数后,患者就知道何时需要备药,因此,避免了因为继续使用剩余药量而不知道何时用尽药物。定量装置或装于顶部的气雾剂药瓶上,或阀范围内,或是致动器整体部分,且是机械性或电动性运转。

## 其他改进装置

MDI 中装入呼吸致动和(或)计数装置开辟了增加其他性能的可能性,特别是在上述的两个特性使用电子方法实现后。以数据收集技术为特点的 MDI 允许患者或医师检测如何及何时用药(依从性),或检测肺功能和控制患者使用的药物量,这是显而易见的。

### 喷射雾化和蒸发

由 MDI 给药的细雾化药物的可吸入颗粒或细颗粒质量(FPM)高度依赖于制剂的分散和随后的喷雾动力。气雾特点主要依赖于抛射剂与常微粉化的药物颗粒、处方赋形剂和定量阀直径及设计及致动器主要变量(主杆区、微化喷

孔、致动器气流途径和喷嘴设计)之间的相互作用。吸入器这些变量的重要性在前面已经说明<sup>[45~47]</sup>。MDI 通常是较慢的定量给药,比简单的水压分散具有更细的喷雾微滴分布,这是因为气体和液体的混合液在定量室喷出。

部分抛射剂的迅速蒸发在定量室、阀主杆的扩充空间和致动器主杆区<sup>[47]</sup>,并在喷嘴内液体和气体交替通过出口阶段进一步蒸发。

喷雾微滴以高达 25~30m/s 的速度喷出<sup>[48]</sup>,虽然气雾剂很快减速,其速度仍远高于吸入空气的速度,导致药量在口腔咽喉区域的积聚。这种效应可通过简单的咽喉模型自然模仿<sup>[49]</sup>,更精确的是与人咽喉尺寸同样大小的模型模仿<sup>[50]</sup>。

因为颗粒的惯性与相对密度、速度及直径大小成比例,所以口腔咽喉部要沉积更多取决于微滴的大小,而不是速度、密度。因此,当 MDI 喷雾细雾化散开和迅速蒸发时,口腔咽喉部药物沉积减少,吸入给药会增加。因此,MDI 喷雾剂的喷雾效率常通过增大抛射剂蒸气压<sup>[45,47,51]</sup>和减小致动器喷雾嘴直径<sup>[45,46,52]</sup>得以提高。

喷雾蒸发受到已知浓度的非挥发性可混合的赋型剂的限制,这里包括作为增溶剂的乙醇<sup>[53]</sup>和 CFC-11,两者在喷雾中都是低挥发性的,在抛射剂蒸发时降温,因而进一步减小了蒸发速度。产生雾化的颗粒大小分布不仅依赖于喷雾动力,也依赖于药物颗粒喷雾分散时在混悬液中的数量、基本大小分布和解凝度。蒸发后的气雾剂颗粒在混悬剂和溶液剂产品中因药物<sup>[45,54]</sup>和非挥发的赋形剂<sup>[45,55]</sup>浓度的增大而增大。

## 生产

在生产 MDI 时,液体装入程序由低温加入方法或高压加入方法发展而来。两种方法适用于溶液剂或混悬制剂。且不管操作过程如何,装药区域的空气要保持相当低的湿度,以使水冷凝成品水吸收的可能性最小。

低温加入过程包括对抛射剂和药物制剂降温,降至大约-60℃,使桶中的药物保持液体状态一次定量加入敞开的药瓶中。然后药瓶立即装阀卷边封闭。

此程序的潜在优点是简单,适合于任何接在药瓶上的阀,使生产流程的变化最小。潜在的不足是高能耗(冷却),由于抛射剂蒸发造成的装量不一、湿气冷凝构成的污染、低温时制剂可能产生的不可逆性的物理变化等缺点,高压加入过程现已广泛使用,或至少部分依赖于固定在容器上的阀注射加料。有 CFC 抛射剂时,高压加入通常包括制备在 CFC-11 与赋形剂中高度沸腾的浓缩混悬剂(或溶液)药物。这一浓缩物在低温区域定量加入敞开的容器中,以使抛射剂在装阀封闭前的挥发损失最小。随后,低沸抛射剂, CFC-12 或 CFC-12/CFC-114 混合物,通过阀高压注射装药,这一过程通常称为充气。这一过程的潜在优点是可在近室温下,达到精确的质量和装药量。潜在的不足是装药设备复杂昂贵及阀必须适应高压加入。

当改为 HFA/HFC 抛射剂时, 由于缺少能直接替代 CFC-11 的产品, 产生了单相的高压装入过程。对于 HFA/HFC 抛射剂, 高浓度药物的混悬剂 (或溶液) 在含有加压系统的抛射剂 (134 或 227ea) 中制备。将阀密封于容器上, 高浓度溶液通过阀高压注入之后, 加入部分纯的抛射剂<sup>[56]</sup>。这一过程需要整套加压注药系统, 并有配套的人造橡胶密封并使用可循环的泵, 没有气涡和高压的液体。

在装药过程中, 在阀固定密封前常规做法是除去容器中的空气, 以避免在连续喷雾时导致 MDI 内压的改变。在低温加药和双相高压加药操作过程中, 向容器内加所需量抛射剂液体可除去容器内的空气。然而, 在单相高压加药过程中, 容器中的空气在阀固定操作前由单独操作清除, 或是注入少量的抛射剂或抽真空 (图 8)。

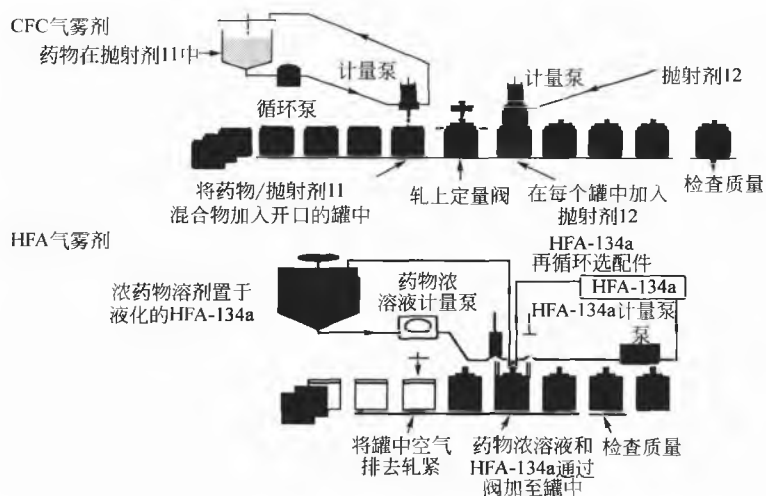


图 8 MDI 罐的压力灌装流程

在连续操作中, 高速旋转的加药机器广泛应用于高浓度药物的加入、阀安置、固定及充气。同样的装备适当的改造后可用在 HFA/HFC 的 MDI 中, 用于清空容器。间断式的机器时常用于小规模加药。加药流水线可能配有检重位置, 从而剔除任何超量的或欠量的产品。另外, 耐热设备在加药后使用, 使 MDI 的温度升为预定值 (如 50~55℃), 以增加内部压力, 从而检查完整的固定密封性。在完成指定的检查后, 作为最后包装操作的一部分, 进一步的质量检查, 可剔除可能有泄漏的产品。

## 质量控制

MDI 成批的质量控制检测在生产前应用于每一个吸入器的构成部分, 如同在生产过程中的质控, 以及成品的质控 (表 3)。许多文献描述了 MDI 的质量控制规程<sup>[21,57,58]</sup>。

表 3 质量控制和定量吸入器的特性分析测试

测试或测试部位的名称	数据类型/评述
生产有效产品前的单独部分检测	
容器	大小的准确性和表面质量; 生产商进行耐力测试
定量阀	大小的准确性和阀拆开后每个部分的表面质量

续表

测试或测试部位的名称	数据类型/评述
每一次启动的平均质量和流速	生产流水线装药的样品及通过使用保证阀准确功能产生数据的喷样质量; 在具体项目上, 经过一段平衡时间保证流速的检测过的样品
加入微粉化药物	化学的、物理的及颗粒大小的具体特点
抛射剂	化学的、物理的特性
表面活性剂	化学特性
致动器	大小准确及完美无损; 雾化分散口精确并位于中心
生产时的操作检控	
空气状况	在生产区域检测气温和温度
药物混悬的浓度	在开始及装药过程中快速分析
加药的药瓶	所有药瓶自动检重
总泄漏及安全性	容器加热以升高内部压力; 可见的泄漏及变形检查
泄漏速度控制	在适当的平衡阶段后, 检查所有容器的质量, 以满足一些特殊限制

续表

测试或测试部位的名称	数据类型/评述
定量阀功能	在平衡阶段，在一定数量的启动后，进行装药的容器喷雾检查
应用于成品的分析测试	
外观	混悬剂描述；无容器侵袭；吸入器各部分完整无损
特质	HPLC 或红外鉴定，无多形态或不正常溶解
微生物监测	例如，符合美国药典
喷雾模式	在喷嘴的几何定位上一致的、同中心的向前直喷
水分含量	Karl Fisher 法或其他方法
异物	1993 年英国药典
可滤取的成分	不同批之间有一致性，对于不同成分的水平与特性仔细考虑
压力检测	美国药典
泄漏检测	美国药典
药物相关杂质	据临床试验前/临床试验批文的特性进行比较
颗粒大小分布特征	
多相影响因素	认真考虑颗粒大小分布概要和多点特性；单相资料可结合起来用于质目的的比较
激光颗粒大小	更多的是在开发时研究产品的特性
显微镜方法	更多的是在开发时研究产品的特性
MDI 制药的药物特征	
给药的平均剂量和含量一致	对瓶间和瓶内各种变化的平均值和单次启动使用的变化；调整指导随地区变化 <sup>[22,58,59]</sup>
启动的准备	检测说明患者用药前必须喷出一定数量废液作为启动正常使用的准备
启动的次数	说明产品在标示的次数末期能达到正常使用剂量
致动器沉淀	在开发期间对每一给药剂确定有多少药物沉积在致动器，并因此知道前一次启动剂量是多少

组分和过程中的质量控制（QC）

用于铝药瓶的典型 QC 规程包括其大小、质量、牢固性、表面完美性、洁净的评估。重要的药瓶特性是瓶颈的完美性和大小、局部的罐壁厚度和药瓶的外观大小，这将影响阀的密封性、药瓶牢固性和体积及致动器的装配。药瓶牢固性通常由生产者用水压测试。玻璃瓶可用碰撞破碎

坠落测试。

从作用到产品功能的实现，定量阀通常是吸入器最关键的部分，因此，在使用前需要仔细检查定量阀，拆开阀的各部分以检查其大小的准确性及其表面质量，装配好的阀要检查其准确的定量及给药。测试包装为储藏至产品平衡期后，并进行了抛射剂泄漏（失重）和定量给药的质量检测。给药的重现性报告已用于各种阀抛射剂整体结合的检查<sup>[59]</sup>。凡是使用混合抛射剂的产品，在容器内药物喷射时因为较易挥发的成分损失较多，产生一定的进行性分离<sup>[59]</sup>。液体抛射剂相对密度的有关变化会导致小而进行性的定量给药质量改变，但这不影响给药，因为这由定量体积决定。

MDI 通用的过程质控规程见表 3。另外，生产过程中，环境空气的洁净度、湿度和温度的严格控制是必须的。在装药开始运行前，混悬液或溶液药物含量的快速验证是重要的，因为气雾剂产品的重复回收不可行。在装药期间可能必须检测分散质量和混悬液的药浓度。各种在流程中检测的方法学仍在研究之中，但在生产运行中，测量每罐总药量仍为目前的主要方法。密封后容器的在线质量检查提供了每罐混悬剂装量的间接记录。

MDI 批的认定

MDI 产品必须进行批控制和批认可的测试，类似于其他剂量形式，即活性药物的鉴定、输出剂量和剂量均匀性。另外还有唯一用于吸入剂的特殊测试，例如，气雾剂给药中颗粒大小的分布特征。常规检测见表 3。

目前，从定量阀（没有致动器）喷射进入溶剂中以确定其含量的情形还少见<sup>[60]</sup>。采用这一方法，必须将来自装置的剂量，扣除沉积在致动器的药量、装置外的剂量才能供患者使用。目前首选的方法是让吸入器配上致动器，喷射进入捕获系统，通过气流能被抽出（如 USP/NF 方法）<sup>[61]</sup>。这种方法的特点是来自致动器的剂量更能代表患者所用剂量。通常，来自致动器的平均给药量控制在标示量的 85%~115%之内，另外的限定用于单剂量的扩散。

喷雾和气雾剂的粒径分析

喷射气雾剂颗粒大小的分布特征和质量控制是 MDI 和其他吸入产品的主要检测项目，并已有很多可行的方法。其方法可大致分为两类：光学的（通常激光）方法和基于惯性撞击的方法。

典型的光学方法在少量喷射后能很快给出详尽结果，但不足是不能代表装置完全的喷雾量。它们不能将药物颗粒从无药的赋形剂颗粒或单纯抛射剂微滴，或在一起的不同药物区别开来。光学方法得到颗粒大小的结果可能是错误的或是关于真实药物活性物质颗粒大小分布的偏倚。然而，其方法在定性检查上被证明很有用。



## D

## 喷雾微滴大小分析

喷雾微滴大小分布主要影响口腔咽喉部沉积的药量,和输送至肺及肺区域沉积的药量。测定 MDI 喷雾微滴颗粒大小的方法<sup>[4,6]</sup>已有综述。

对于致动器的质量控制,常对喷雾液槽外观和外形<sup>[62]</sup>检测。这些方法突出了致动器分散口和主杆区(例如,偏离中心喷射或同质的不良喷雾)制模的所有潜在问题。液槽外观能通过定时闪光摄影获得<sup>[4,63]</sup>,但是更好的液槽变化动态图像可通过高速的视频记录<sup>[62,64]</sup>获得。

也有喷雾碰撞在特殊的幻灯片上,进行喷雾微滴显微检查分析,显微激光全息摄影术已用于 MDI 微滴大小分布和浓度的检测<sup>[65]</sup>,激光视频成像也用于 MDI 喷雾检测<sup>[66]</sup>。

激光衍射(LD)的颗粒大小分析是一种迅速、方便、无侵入的方法,广泛应用于测量工业喷雾的微滴大小分布。LD 分析用于非定量分散喷雾,以研究不同抛射剂<sup>[67,68]</sup>和不同阀孔的作用<sup>[69]</sup>。

口腔咽喉部的喷雾作用依赖于微滴速度和大小,对于每一个微滴,两个参数可同时被测定并记录。有分相的 Doppler 风速计(PDA)仪器,可得到 MDI 喷雾的有用结果<sup>[70]</sup>。

## MDI 气雾剂颗粒大小分布分析

MDI 气雾剂大小分析方法已有综述<sup>[6,71~73]</sup>,有多种测量颗粒大小的方法可以应用。基于对幻灯片进行喷雾的颗粒显微检查<sup>[72,73]</sup>,是针对微粉化不良或药物在混悬剂中稳定性不佳的、异常大的单一颗粒提供的检测,但这只是很粗略的方法。

## 惯性撞击分析器

惯性撞击分析器将气雾颗粒依照其惯性进行空气动力学分级,其惯性与颗粒大小成正比。惯性撞击法是在 MDI 气雾剂颗粒大小检测中应用最广泛的方法,主要原因是能检测多次喷射的全部气雾构成的大量样本。其方法的优点是气动力学检测能说明颗粒外形和相对密度,颗粒大小的空气动力学分布可根据药物量的具体检测,不依赖于可能出现的其他雾化成分,就可给出药物的空气动力学大小分布的具体结果。

最常用于颗粒大小分布的空气动力学的分类方法是 Andersen 圆盘撞击法。Andersen 惯性撞击器最初从环境空气样本检测发展而来,但是现在已经常用于医疗气雾剂颗粒大小的特征描述。颗粒大小的概括资料由此得出,或者用其总数可以大概确定吸入范围内的药物量,其检测由与可吸入颗粒大小相应的截止膜与多个级别的撞击器组合使用来完成<sup>[74]</sup>。为收集颗粒大小分布数据,多次喷射 MDI,喷出物通过连接器进入层叠的撞击测量器中(定义为咽喉

或导口)。在进入惯性撞击分析过程中,气雾剂经过喷射直径逐渐变小并进入撞击盘。当颗粒向下通过惯性撞击分析器到终点时,碰撞于下面的收集盘,其速度不断增大。多级惯性撞击分析器(特别是 Andersen 法)广泛用于评价 MDI 气雾剂<sup>[72]</sup>。惯性撞击分析器 Andersen 法简单图解见图 9。

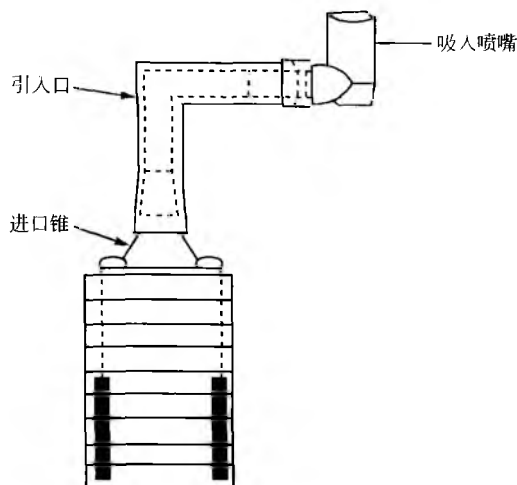


图 9 Andersen 圆盘撞击器示意图

要收集和传送由 MDI 喷射进入惯性撞击分析器的药物量,使用的收集系统主要有两种:大室(允许大量的或全部的喷雾微滴在撞击前蒸发<sup>[72,75,76]</sup>)和限制的导口<sup>[51,73,78]</sup>,它与人的口腔咽喉部天然结构很相似,有相当数量的微滴在此发生撞击。微滴撞击前蒸发的程度及检测的颗粒大小分布是喷射和撞击之间延迟时间的作用,延迟时间取决于进口管的大小、特殊形状、上面的惯性撞击测量阶段和气流速度。微滴蒸发速度依赖于抛射剂/赋形剂系统的挥发性<sup>[75]</sup>、气流速度以及空气蒸汽混合从微滴的蒸发扩散。显然,将吸入器系统与标准化导口、层叠惯性撞击分析器和空气流速比较是必要的<sup>[72,77]</sup>。

虽然对撞击盘的微重变化已有研究,撞击药物的比例通常由特定的化学分析测定<sup>[75,78]</sup>。通常多次喷射集中用于每一个层叠撞击的确定,以收集足够的药物用于精确分析。美国药典收载检测 MDI 的方法,用层叠惯性撞击测量连接到特定尺寸的咽喉状管道上<sup>[74]</sup>。

简单的双级惯性撞击分析器(或称为湍流器,impinger),含有一个咽喉状的几何构型,一直在应用之中,比多级层叠惯性撞击分析器(或湍流器)产生数据更快,可用于 QC<sup>[74,79~81]</sup>。双级湍流器(TI)技术的应用逐渐减少,因为它不能为内部产品研究或管理机构提供必需的更详细的分布数据。但它能灵敏地显示因为晶体形成造成制剂不稳定而导致的颗粒聚集。

## 单颗粒光学测定器

单颗粒光学测定器(SPOS)检测通过一个小的光学感

知区域的每一个气雾剂颗粒,很快给出颗粒直径和浓度“实时”测定值。需要采用较低的颗粒浓度,以避免因为多颗粒出现而在感知区域引起的偶然误差。SPOS是快速检测方法,但是用于MDI制剂评价有以下不足:

- 药物含有的颗粒不能从赋形剂或异物颗粒区别开来;

- 因为在取样探查时大颗粒的不恰当测量及其可能部分丢失,气雾剂取样可能不具有代表性<sup>[82]</sup>;

- 等质量分布是基于颗粒是球形和密度均匀的假设推断出来的。

与撞击方法相比,SPOS能更快得到气雾剂形态分析的结果。因为前述理由,其应用于MDI时要慎重。

### 参考文献

1. Bisgaard, H. *Respir. Med.* 1997, 91 (Supl A), 20-21.
2. Tansey, I. P. *Pharm. J.* 1997, 259, 896-898.
3. Vervaet, C.; Byron, P. R. *Int. J. Pharm.* 1999, 186, 13-30.
4. Hallworth, G. W. *The Formulation and Evaluation of Pressurised Metered Dose Inhalers*. Drug Delivery to the Respiratory Tract; Ganderton, D., Jones, T., Eds.; Ellis Horwood; Chichester, UK, 1987; 87-118.
5. Atkins, P. J.; Barker, N. P.; Mathisen, D. *The Design and Development of Inhalation Drug Delivery Systems*. Pharmaceutical Inhalation Pressurised Metered-Dose Inhaler Technology; Hickey, A. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1992.
6. Moren, F. *Aerosol Dosage Forms and Formulation*. Aerosols in Medicine—Principles Diagnosis and Therapy; Moren, F., Newhouse, M. T., Dolvich, M. B., Newman, S. P., Eds.; Elsevier; Amsterdam, 1993; 2.
7. Purewal, T. S.; Grant, D. J. W. *Metered Dose Inhaler Technology*; Interpharm, Press Inc.; Illinois, 1998.
8. IPAC (International Pharmaceutical Aerosol Consortium). *Ensuring Patient Care—The Role of the HFC MDI*, 2nd Ed.; 1999.
9. Molina, M. J.; Rowland, F. S. *Nature* 1974, 249, 810.
10. Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer, Liaison Office of the United Nations Environmental Programme, New York, 1989.
11. Dalby, R. N.; Byron, P. R.; Sherpherd, H. R.; Papadopoulos, E. *Pharm. Technol.* 1990, 26-33.
12. Dalby, R. N.; Byron, P. R. *Pharm. Technol. Int.* 1992, 4 (1/2), 42-45.
13. CPMP (Committee for Proprietary Medicinal Products) Result of the Coordinated Review of 1, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane HFC-134a 13 July 1994.
14. Harnor, K. J.; Perkins, A. C.; Wastie, M.; Wilson, C. G.; Sims, E. E.; Feely, L. C.; Farr, S. J. Effect of Vapor Pressure on the Deposition Pattern from Solution Phase Metered Dose Inhalers. *Int. J. Pharm.* 1993, 95 (1-3), 111-116.
15. Byron, P. R. Towards the Rational Formulation of Metered Dose Inhalers. *J. Biopharm. Sci.* 1992, 1-9.
16. Vanbever, R.; Mintzes, J. D.; Wang, J.; Nice, J.; Chen, D.; Batycky, R.; Langer, R.; Edwards, D. A. Formulation and Physical Characterization of Large Porous Particles for Inhalation. *Pharm. Res.* 1999, 16 (11), 1735-1742.
17. Edwards, D. A.; Hanes, J.; Caponetti, G.; Hrkach, J.; Ben, J. A.; Eskew, M. L.; Mintzes, J.; Deaver, D.; Lotan, N.; Langer, R. S. Large Porous Particles for Pulmonary Drug Delivery. *Science* 1997, 276 (5320), 1868-1871.
18. Shekunov, B. Yu. Crystallization Processes in Pharmaceutical Technology and Drug Delivery Design. *J. Cryst. Growth* 2000, 211, 122-136.
19. Dellamary, L. A.; Tarara, T. E.; Smith, D. J.; Woelk, C. H.; Adractus, A.; Costello, M. L.; Weers, J. G. Hollow Porous Particles in Metered Dose Inhalers. *Pharm. Res.* 2000, 17, 168-174.
20. BenJebria, A.; Eskew, M. L.; Edwards, D. A. Inhalation System for Pulmonary Aerosol Drug Delivery in Rodents Using Large Porous Particles. *Aerosol Sci. Technol.* 2000, 32, 421-433.
21. FDA Centre for Drug Evaluation and Research (CDER), DRAFT Guidance for Industry, Metered Dose Inhaler (MDI) and Dry Powder Inhaler (DPI) Products. <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
22. Adams, W. P.; Poochikian, G.; Taylor, A. S.; Patel, R. M.; Burke, G. P.; Williams, R. L. Regulatory Aspects of Modifications to Innovator Bronchodilator Metered Dose Inhalers and Development of Generic Substitutes. *J. Aerosol Med. Deposition, Clearance, and Effects in the Lung* 1994, 7 (2), 119-134.
23. Ruffin, R. E.; Southcott, A. M. Chlorofluorocarbon-Free Inhalation Devices in Asthma: Are there Clinical Implications? *Biodrugs* 1998, 10 (2), 91-96.
24. Brambilla, G.; Ganderton, D.; Garzia, R.; Meakin, B.; Ventura, P. Proceedings of Drug Delivery to the Lungs IX. Modulation of Aerosol Clouds Produced by HFA Solution Inhalers; 1998, 155-159.
25. Williams, R. O.; Hu, C. *European J. Pharm. Biopharm.* 1997, 44, 195-203.
26. Novartis A.G. European Patent Application No. 94810478. 1.
27. Downing R. C.; Parmalee H. M. *Proc CSMA* 37th

- Annual Meeting Freon Aerosol Report A19, E. I. Du Pont de Nemours and Co. Ltd. New York 1950.
28. Howlett, D. *Spray Technol. Market.* 1994, 18-22.
29. Pischtiak, A. H. *Proceedings of Drug Delivery to the Lungs X*; 1999, 171-174.
30. Williams, G.; Tcherevatchenkoff, A. *Proceedings of Drug Delivery to the Lungs VIII*; 1997, 91-94.
31. Dunbar, C. A. CA129 - 153066/12 *Journal* 19981231. *Part. Sci. Technol.* 1997, 15, 253-271.
32. Tansey, I. P. *The Challenges in the Development of Metered Dose Inhalation Aerosols using Ozone-Friendly Propellants.* *Spray Technol. Mark.* 1994, 7, 26-29.
33. Weeke, E. R. *Eur. J. Dis.* 1982, 63 (Suppl. 119), 105-109.
34. Konig, P. *Chest* 1985, 82, 276-284.
35. Moren, F. *Int. J. Pharmacol.* 1978, 1, 205-212.
36. Corr, D.; Dolovich, M.; McCormack, D.; Ruffin, R.; Obminski, G.; Newhouse, M. J. *Aerosol Sci.* 1982, 13, 1-7.
37. Moren, F. *Int. J. Pharmacol.* 1978, 1, 213-218.
38. Newman, S. P.; Newhouse, M. T. *Effect of Add-On Devices for Aerosol Drug Delivery; Deposition Studies and Clinical Aspects.* *J. Aerosol Med; Depositions, Clearance, and Effects in the Lung* 1996, 9, 55-70.
39. Zanen, P. *Inhalation Anti-asthma Therapy with Spacers; Technical Aspects.* *Monaldi Arch. Chest Dis.* 1994, 49, 258-264.
40. Barry, P. W.; O'Callaghan, C. *Inhalational Drug Delivery from Seven Different Spacer Devices.* *Thorax* 1996, 51, 835-840.
41. Wildhaber, J. H.; Devadason, S. G.; Eber, E.; Hayden, M. J.; Everard, M. I.; Summers, Q. A.; LeSouef, P. N. *Effect of Electrostatic Charge, Flow, Delay and Multiple Actuations on the in Vitro Delivery of Salbutamol from Different Small Volume Spacers for Infants.* *Thorax* 1996, 51, 985-988.
42. Dewsbury, N. J.; Kenyon, C. J.; Newman, S. P. *The Effect of Handling Techniques on Electrostatic Charge on Spacer Devices; A Correlation with in Vitro Particle Size Analysis.* *Int. J. Pharm.* 1996, 137, 261-264.
43. Crompton, G. K. *Problems Patients have using Pressurised Aerosol Inhalers.* *Eur. J. Respir. Dis.* 1982, 63, 101-104.
44. Newman, S. P.; Weisz, A. W. B.; Talee, N.; Clarke, S. W. *Improvement of Drug Delivery with a Breath Actuated Pressurised Aerosol for Patients with Poor Inhaler Technique.* *Thorax* 1991, 46, 712-716.
45. Polli, G. P.; Grim, W. M.; Bacher, F. A.; Yunker, M. H. *J. Pharm. Sci.* 1969, 58, 484-486.
46. Clark, A. R. *Metered Atomisation for Respiratory Drug Delivery*; Ph. D. Thesis Loughborough University of Technology, 1991.
47. Hickey, A. J. *Inhalation Aerosols—Physical and Biological Basis for Therapy, Lung Biology in Health and Disease*; Marcel Dekker, Inc.; 1996; 94.
48. Newman, S. *Deposition and Effects of Inhalation Aerosols*; AB Draco; Lund Sweden, 1983; 13-22.
49. Kim, C. S.; Eldridge, M. A.; Sackner, M. A. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987, 135, 157-164.
50. Swift, D. L. *J. Aerosol Sci.* 1992, 23, 495-498.
51. Backstrom, K.; Nilsson, P. G. *J. Aerosol Sci.* 1988, 19, 1097-1100.
52. Ranucci, J. A.; Cooper, D.; Sethachutkul, K. *Pharmacol. Technol.* 1992, 4, 84-92.
53. Miller, J. F.; Schatzel, J. F.; Vincent, B. J. *Colloid Int. Sci.* 1991, 143, 532-554.
54. Najafabadi, A. R.; Ganderton, D. J. *Pharm. Pharmacol.* 1991, 43 (67P) .
55. Najafabadi, A. R.; Ganderton, D. J. *Pharm. Pharmacol.* 1990, 42 (Suppl. 12P) .
56. Patent UK GB2236146B
57. Committee for Proprietary Medicinal Products. *Replacement of Chlorofluorocarbons (CFCs) in Metered Dose Inhalation Products.* 1993, MCA Eurodirect Publication No. 5378/93.
58. *Inhalanda, Preparations for Inhalation, European Pharmacopoeia. Supplement*; 1999, 671.
59. Contractor, A. M.; Richman, M. D.; Shangraw, R. F. *J. Pharm. Sci.* 1970, 59, 1488-1489.
60. *British Pharmacopoeia.* Her Majesty's Stationery Office; London, 1988; II, 875-876.
61. *USP. United States Pharmacopoeia. 23rd Revision U.S. Pharmacopoeial Convention, Inc.; Rockville, MD, 1994; 1839.*
62. Miszuk, S.; Gupta, B. M.; Chen, B. C.; Clawans, C.; Knapp, J. Z. *J. Pharm. Sci.* 1980, 69, 713-717.
63. Hallworth, G. W.; Kedgley, D. J. *Pharm. Pharmacol.* 1986, 38 (Suppl), 27.
64. Dhand, R.; Malik, S. K.; Balakrishnan, M.; Verma, S. R. *J. Pharm. Pharmacol.* 1988, 10, 429-430.
65. Moren, F.; Hathaway, D. *Proc. 3rd International Conference on Liquid Atomization and Spray Systems* 1985, 1, 111B.1 ICLASS-85; London, 1985; 1-6.
66. Hotham, G. A. *Particle Size Analysis of Aerosols in Medicine. Respiratory Aerosols*; Gale, A. E. Ed.; Gordon Harris, St. Agnes, South Australia, 1981; 47-71.
67. Johnsen, M. A. *The Aerosol Handbook, 2nd Ed.*; Dorland; Wayne NJ, 1982; 271, 273-354.



68. Hind, G. *Manf. Chem.* 1990, 61, 23-30.
69. Tsuda, S.; Dohara, K.; Shinjo, G. *Chem. Pharm. Bull.* 1988, 37, 2777-2781.
70. Burton G. R. Negus C. R. *Proceedings of the Fourth Annual Conference of the Aerosol Society University of Surrey* 1909; 211-216
71. Byron, P. R. *Respiratory Drug Delivery*. CRC Press, Inc.; Boca Raton, FL, 1973.
72. Hallworth, G. W.; Andrews, U. G. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 898-907.
73. Hallworth, G. W.; Hamilton, R. R. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 890-897.
74. *The Pharmacopeial Convention*. 7th Suppl.; Rockville, MD, 1992; 3122-3129, *United States Pharmacopeia (USP/NF)*.
75. Kim, C. S.; Trujillo, D.; Sackner, M. A. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1985, 132, 137-142.
76. Nilsson, G.; Nrunzell, A.; Helberg, H. *Acta Pharmac. Suec.* 1977, 14, 95-104.
77. Phillips, E. M.; Byron, P. B.; Fults, K.; Hickey, A. J. *Pharmacol. Res.* 1990, 7, 1228-1233.
78. Malton, C. A.; Hallworth, G. W.; Padfield, J. M. *J. Pharm. Pharmacol.* 1982, 34 (Suppl), 65.
79. Hallworth, G. W.; Westmoreland, D. G. *J. Pharm. Pharmacol.* 1987, 39, 966-972.
80. Atkins, P. J. *Pharmacol. Technol.* 1992, 4, 26-32.
81. *British Pharmacopoeia*. Appendix XV11C Her Majesty's Stationery Office; London, 1988.
82. Bouchikhi, A.; Becquemin, M. H.; Bignon, J.; Roy, M.; Teillac, A. *Eur. Respir. J.* 1988, 1, 547-552.
83. CPMP (Committee for Proprietary Medicinal Products) *Result of the Coordinated Review of 1, 1, 1, 2, 3, 3, 3-Heptafluoropropane (HFC-227)* 13 Sept 1995.

(陈桂良 译)

## D

## 动物在药物研发中的作用

Farrel L. Fort

TAP Pharmaceutical Products, Inc., Lake Forest, Illinois, U. S. A.

## 动物在药物研发中的作用

## 1. 动物用于药物研究的历史

动物在科学研究中的应用可以追溯到公元前数世纪。例如,在亚里士多德(384~322 BC)和 Erasistratus (304~258 BC)的著作中就描述了他们对各种动物进行了解剖学研究<sup>[1]</sup>。这类早期研究是基础科学的开始,奠定了现代药物研究的基础。

直到20世纪末期,人类才开始使用家养或易捕捉的野生动物进行活体实验研究。可选择的动物往往是有限的,取决于该动物是否能够获取。19世纪末,实验动物的概念开始出现,即根据动物本身是否符合研究需要有针对性地进行选择;动物多为圈养或从其生活的环境中获取,不应仅考虑获取动物是否便利,而更应重视其用于目前的特定研究是否合适<sup>[2]</sup>。

## 2. 应用动物的必要性和合理性

在完整的动物身上进行研究是非常必要的,这样可以了解药物在活体内复杂的代谢及体内平衡机制下是如何产生作用的。筛选试验常在活体外系统、离体的组织或器官上进行,以确定药物的药理活性。在某些情况下,还可作为一种生物测定技术,帮助纯化具有药理活性的成分。但生物体内不断变化的吸收、分布过程,产生活性或非活性的代谢产物以及排泄过程都将影响药理活性在活体内的表达。评价这种影响作用的唯一方法就是在完整的动物身上进行新药研究。

除了药理活性的研究,还必须确定新药的副作用,必须通过初始评价得出药物的风险效益比。此外,通过活体外技术,还可研究药物在特定器官内的作用机制。但是,要确定意外的药物不良作用,估算可产生药理活性但不会引起不良作用的药物剂量,就必须进行活体内研究。

## 3. 从动物推断到人

对于多数药物而言,在人和其他哺乳动物体内的作用机制是一样的。因此,在药物反应方面,量上的差异比质上的差异更为常见。与部分实验动物相比,人类对某些药物的反应可能更加敏感,但在许多情况下,动物比人类更敏感。例如,小鼠对阿托品最为敏感,猫对阿托品的敏感性稍低,犬和家兔对阿托品的耐受剂量比人类高100倍。

动物在敏感性方面的种属差异通常可以用代谢差异来解释,包括解毒能力方面质与量的差异以及对化学药物的

吸收、转运、分布、排泄等方面的差异。通常认为,实验动物对口服药物的吸收与人类相似,虽然对于某些药物还是有一些量的差异。例如,对于某些药物,动物在吸收与药物作用方面的种属差异与消化道内菌群的不同有关。在哺乳动物中,包括人类,药物的分布和储存是一致的,尽管在人体内血浆结合率高于其他一些小动物。经尿液排泄在一定程度上取决于不同动物种属在饮食习惯上的差异,这是因为饮食可影响尿液的pH,因此也就影响了药物的离子化程度。经胆汁排泄方面,种属与种属之间差异很大。在小鼠和家兔中药物经胆汁排泄的比率明显高于大鼠和人类。不同种属在药物反应方面的差异主要与生物转化率有关,小的实验动物通常转化得比人类更快<sup>[3]</sup>。

## 新药研发中的动物模型

20年前,人们开始采用整体动物或离体的组织和器官对新药物进行药理活性的初始筛选。如今,大部分的新药初始筛选工作都通过体外生物化学和分子生物学技术来完成。只有当某一新药候选品种通过了体外试验的鉴定后,才能开始进行动物研究。动物研究的目的是证实这种新药的药理活性,发现其他未知的药理活性,提供有关该药物体内作用的初始资料。

理想的方法是设计一套体内筛选程序以发现药物特有的活性或联合效应。因此,除了一套初始筛选模型外,还应开展相关的二级试验以发现更多的有关药物特异性、作用机制及潜在副作用方面的信息。

一套完整的体内药理筛选程序将涵盖用于检测药物主要治疗类别的模型,见表1。

表1 主要治疗类别

中枢神经系统	镇静催眠剂
	解痉剂
	肌肉松弛剂
	麻醉剂
	止痛剂(麻醉性及非麻醉性)
	抗焦虑药物
	抗痴呆药物/提高认知力药物
	抗抑郁剂
	精神抑制剂/安定
	抗心律失常药物
心血管系统	抗高血压药物
	抗心律失常药物

续表

代谢	强心剂
	抗血栓药物
	抗心绞痛药物
	脑血管扩张剂
	降脂药
	降糖药
免疫药理	利尿剂
	抗炎药物
	抗水肿药物
	抗过敏药物
	抗哮喘药物
消化系统	支气管扩张剂
	免疫促进剂
	抗溃疡药物
	胃动力药物
	抗分泌药物
抗微生物	抗菌药 (革兰氏阴性和阳性菌)
	抗病毒药
	抗真菌药
	抗毛滴虫药物

以下部分将描述目前用于新药筛选的一些代表性模型。经许可后,大部分模型的描述均摘自前 Pharmacokin 实验室标准操作规程 (Waverly, PA18471)。其他模型以及模型的变化也将在下文中有所描述<sup>[4-6]</sup>。

## 1. 中枢神经系统

对于有中枢神经系统活性的药物初始筛选,一个简便的方法是在小鼠或大鼠中研究神经药理学或进行开放性行为试验。在该试验中,首先予以试验药物,然后将每个动物分别置于一个高 2~4ft (1ft=3.048×10<sup>-1</sup>m,下同)的无盖方盒内。接着持续观察动物的警觉性、沮丧情绪、自主活动、大小便情况、理毛行为、有无共济失调及抽搐现象。对动物进行系统的观察,测定发作时间、峰效应、持续时间以及药物作用的特点。这种试验可对化学药物进行初步的药理学评价,并对急性毒性做出初步估计。中枢神经系统抑制剂、镇静剂、抗抑郁剂、中枢性及外周性骨骼肌松弛剂、精神兴奋剂、镇痛剂、抗惊厥剂及利尿剂均可采用这种试验进行检测。但一般来说,这种试验不适用于检测其他类型的药物。

Randall-Selitto 分析是针对镇痛剂的特异性试验。在该试验中,将啤酒酵母溶于水配制成 20% 的混悬液注入大鼠的一只后爪内。其致水肿的作用可使该大鼠对疼痛的敏感性增加。注入酵母 2h 后予以试验药物,再隔 1h,分别测定

发炎爪和非发炎爪的痛阈值。痛阈测定采用 Ugo Basile 公司的仪器 Analgesy,该仪器可对检测部位施加压力,此压力以恒等的速率不断增加。将鼠爪置于聚四氟乙烯平台上,用一钝尖的聚四氟乙烯锥形物对爪底表面施压。

苯醌扭体分析也是一种检测镇痛活性的试验。在该试验中,将 0.02% 的苯醌溶于 5% 乙醇中,小鼠腹腔内注射 0.25mL。这将引起 100% 的小鼠在 10min 之内出现扭体反应。扭体反应的特征性表现为腹、胸部的扭转、后腿拉近至躯干、将脚跟提起离开地面。若苯醌注射后扭体症状被完全阻断达 10min,即提示阳性反应。

若某种试验药物能够逆转小鼠中出现的丁苯那唑致眼睑下垂,则提示该药物具有中枢神经系统 (CNS) 刺激作用。予以小鼠试验药物,然后经腹腔注射 32mg/kg 丁苯那唑甲磺酸。注射丁苯那唑后 30min,对小鼠眼睑下垂的程度进行分级。眼睑下垂无逆转或部分逆转即提示阳性反应。

对戊四氮致痛的抑制作用提示某药物具有催眠、镇静或抗惊厥活性。予以小鼠或大鼠试验药物,30min 后,肌肉注射一剂戊四氮,戊四氮可引起 50% 的动物出现惊厥 (CD<sub>50</sub>)。若某种药物使 CD<sub>50</sub> 升高,那么该药物可能具有上述提到的几种活性。

## 2. 心血管系统

自发性高血压大鼠可用于筛选有降压作用及心率控制作用的药物。在动物中给药一天或数天,以在动物尾巴上系一膨胀式压脉袋的方式测量血压和心率。由此可检测出大部分的抗高血压药物。通过心率下降可检测出如 β-肾上腺素拮抗剂一类的药物。其他大鼠模型有乙酸去氧皮质酮 (DOCA) 高血压大鼠、肾性高血压大鼠 (夹住单侧或双侧肾动脉) 以及脑卒中易感型自发性高血压大鼠。夹住单侧或双侧肾动脉形成的高血压犬也可作为第二种动物种属用以检测或证实药物的降压活性。

由于引入了静脉内和动脉内置管、测量血流和血压的技术,给研究带来了很大的便利,因此常选用犬进行血液动力学研究。这类研究用以评价试验药物对收缩压和舒张压、心率、心输出量、等容相室内压变化速率 (dp/dt)、呼吸、ECG 及心室压的影响。根据这些数据,可检测出对治疗心绞痛、充血性心力衰竭、冠脉痉挛、心肌梗死有价值的药物作用。

## 3. 抗炎

两种经常用以检测抗炎活性的动物模型为角叉菜胶致鼠爪水肿和佐剂致多发性关节炎大鼠。前一种反映的是急性炎症过程,而后一种反映的是慢性炎症过程。非甾体类抗炎药可抑制角叉菜胶致鼠爪水肿的形成。但为了检测慢性炎症过程发展及形成阶段的药物活性,人们普遍公认的模型是多发性关节炎模型。在这两种试验中,需要测量的终点均为大鼠后爪的体积。这是通过将后爪浸泡至水银应变计体积描记仪的池中来完成。在角叉菜胶试验中,将 1% 的角叉菜胶混悬液 0.1mL 注射至大鼠一只后爪的跖面。

## D

1h 后予以试验药物, 再过 3h 后, 分别测量注射了角叉菜胶和未注射角叉菜胶的后爪体积。两次测量结果之间的净差异提示试验药物治疗后残余的水肿量。净差异越小, 试验药物的抗炎活性就越强。在多发性关节炎模型中, 采用与角叉菜胶相同的注射方法, 在一只后爪上注射 0.1mL 溶于液体石蜡的提纯后的结核分支杆菌或乳酪分支杆菌(弗氏佐剂) 0.75% 的消毒过的混悬液。多发性关节炎的症状约在 20d 后出现。因此, 为了检测药物在慢性炎症发展阶段的活性, 应在单次注射弗氏佐剂后的前 20d 内予以试验药物。为了检测药物对完全形成的慢性炎症的拮抗活性, 应在注射弗氏佐剂后 20d 左右开始予以试验药物, 连续给药 4~10d。在角叉菜胶及多发性关节炎这两种模型中, 药物的作用是通过与非药物治疗组相比, 药物治疗组抑制鼠爪水肿的百分比来表示的。

在小鼠巴豆油局部炎症试验中, 将 20 $\mu$ L 3% 的巴豆油溶液局部涂抹于小鼠一只耳朵的前后两个表面, 30min 后, 将 20 $\mu$ L 试验药物涂抹于同一只耳朵上。在涂抹巴豆油 2h 后测量药物抑制鼠耳水肿的效果, 若与安慰剂治疗对照组相比, 水肿抑制率超过 50%, 则提示该药物具有急性局部抗炎活性。

#### 4. 免疫调节

抑制唑酮诱导的迟发型过敏反应可作为一种体内试验, 用以检测药物对细胞免疫反应的抑制作用。在两组小鼠已剃毛的腹部表面局部涂抹 0.1mL 5% 的唑酮使这组小鼠致敏。1h 后经腹腔给予试验药物, 之后每日一次, 连续给药 5d。再过 4d 后, 在这些动物的一只耳朵上涂抹 0.5mL 的唑酮作为刺激。24h 后测量鼠耳的厚度。与未经治疗的对照组相比, 鼠耳厚度减少则提示免疫抑制。

在致敏小鼠中, 通过血清抑制绵羊红细胞裂解提示体液免疫反应受到抑制。通过静脉注射 0.2mL 2% 的绵羊红细胞悬液令两组小鼠致敏。从绵羊红细胞致敏后 2h 开始, 连续 3d 经腹腔注射试验药物或安慰剂于这两组小鼠中。致敏后 9d, 采集血液标本, 制备已灭活补体的血清, 然后连续稀释。将绵羊红细胞及补体加入至血清稀释液的等分试样中。然后用引起完全溶血的稀释浓度的倒数来表示血清滴度。低于正常滴度可提示免疫抑制, 高于正常滴度则提示免疫刺激。

#### 5. 镇咳

犬模型的制备需要通过手术在气管腔内植入一片小金属块<sup>[7]</sup>。在 2 周的恢复期后, 犬的咳嗽反应取决于其对植入气管的金属块所产生的电磁刺激的反应。施加刺激 3~5s, 记录刺激期间及刺激后 30s 内所引起的咳嗽总次数。在确定了每只犬的对照咳嗽反应后, 可每隔一周予以一次试验药物, 然后与予以标准止咳药后观察到的结果进行比较。

#### 6. 内分泌

检测降糖活性的一种简单方法是在大鼠皮下注射葡萄

糖后, 口服试验药物, 然后测定其血糖水平的变化。令大鼠禁食一夜, 予以试验药物, 常采用灌胃的方法, 然后立即皮下注射 125mg 葡萄糖。在予以试验药物后 2h, 将大鼠麻醉, 然后抽取血液进行血糖测定。与未用试验药物治疗的对照组相比, 若血糖水平下降则提示该药物具有降糖活性。

#### 7. 抗微生物

许多动物模型是人为地使其全身或特定组织或器官受到感染。感染行为及抗生素清除这些感染的疗效有所不同, 这取决于所感染的器官或组织。在同一动物的不同组织和器官中, 局部病理类型、抗生素的渗透和药动学过程、局部自身防御体系以及细菌接种体的清除率都是有差异的。因此, 为了能可靠地预测某种抗生素的临床疗效, 必须强制性地开展新抗生素的体内试验。现已有多种这样的动物模型, 详细情况见下文三个系列内容<sup>[8]</sup>。

#### 8. 抗肿瘤

疑有抗癌活性的新药应在标准动物模型身上进行检测。在这种动物模型中, 肿瘤从一代动物(一般为小鼠)身上移植至下一代, 因此肿瘤就始终存在于体内。体外肿瘤细胞培养体系常用于确定新药是否具有细胞毒性或生长抑制活性。但一般认为体内试验能更好地预测药物在人体内的活性。

常用的是 L1210 淋巴性白血病模型。BDF1 或 CDF1 小鼠通过腹水瘤携带了这种肿瘤。从携带小鼠中抽取的含 100 000 个细胞的腹水被注入试验小鼠身上。24h 后, 开始试验药物的治疗。治疗 6d 或 7d 后, 计算存活小鼠的数量并称量。通过比较药物治疗组和非药物治疗组进行结果评价。与非药物治疗对照组相比, 导致存活小鼠比例增加的药物可能具有抗癌活性。另有多种其他类似的动物模型<sup>[9]</sup>。

### 动物在药物安全性测试中的作用

#### 1. 一般性原则

一种新药用于人体之前, 必须在动物身上进行测试, 以确定它的副作用以及引起副作用的剂量。这项测试必须在活体内进行。因为吸收、分布、代谢、排泄过程的效应及这些过程之间的相互作用以及整体动物内各种器官与神经内分泌系统间的相互作用等, 这些在体外都是不能够被复制的。为了对新药的副作用做出本质性的描述, 通常予以的剂量应该远高于临床剂量, 有时用药时间也比实际使用的时间更长。这是因为在实验动物身上要做出药理和毒理作用所需的剂量常常高于用于人体剂量, 而且, 通常只有过大的剂量才会出现临床用药的副作用。在某些情况下, 药物可在体内蓄积, 或在一些特殊器官或组织内蓄积, 由此出现中毒症状。有些副作用只有在长期反复给药后才会出现。

除了要求在动物身上测试新药之外,还有必要在不止一种的动物种属身上进行测试,这是因为将动物实验的结果外推于人只是一种权宜之计,并不十分理想。某些动物种属可能比其他种属更为敏感或预测作用更强。为了确保新药的安全性没有被过分夸大,所有潜在的副作用也都没有被遗漏,常规的步骤是在至少两种动物种属身上测试新药的安全性。大多数情况下均选择啮齿类和非啮齿类动物。

新药所必需的动物测试种类及研究时间的长短取决于药物的性质(药理学或化学类),计划用于临床的药物(如一般疗程的长短)在某种程度上还取决于上市国家的要求。以下部分将进一步讨论这些因素。

## 2. 急性毒理

在急性毒理试验中,采取一次性单剂给药。最常用的研究设计是一次性予以各组大鼠或小鼠(如每种性别各5只)不同剂量的药物治疗,剂量由大到小分布很广,然后观察7~14d,研究其生存率以及提示毒性反应的身体或行为学标志。在大多数情况下,均可由此确定 $LD_{50}$ (即引起50%的动物死亡的剂量);但这并不总是必要可行的。开展急性毒理试验的原因是多样的。这是针对新药进行的第一项毒理试验,它为以后的毒理研究应选择何种剂量(包括重复给药)提供了基础。这项试验提供了有关新药单次大剂量给药的疗效的资料。这样的资料可用于预测在人体内过量给药(意外性或目的性过量用药)将产生何种作用。急性毒性试验对于新批次的药物而言,是一种便利的安全性检测方法。虽然任何新批次的药物都将接受全面的化学分析,但在活体动物身上进行快速试验,可以确保其急性毒性未发生巨大改变,在这批新药用于人体之前给人们提供一种安慰和使人们感到放心。急性毒性试验也是一种可确定两种药物间相互作用的便利的方法,这种相互作用在临床使用中可能会引起预料之外的毒性反应。因此,如果该新药在临床上常常与其他药物联合使用,或使用该新药的患者通常都会接受其他某种药物的治疗,那么,为了在该新药进入临床之前事先预测这种相互作用,谨慎起见,应在急性毒性试验中将该新药与其他相关的药物联用进行测试。若这种联合用药研究的结果呈阳性,那么还有必要开展时间更长的、反复给药的研究以对此进行追踪。

急性毒性试验可采用任何一种途径给药(口服、静脉给药、肌肉注射、经腹腔给药、皮下给药或经皮给药)。通常应根据临床使用的需要来选择给药途径。急性毒性试验一般采用的都是大鼠和小鼠;但当给药途径为经皮给药时,则常选用家兔来完成试验。

如果是胃肠外给药,那么急性静脉和肌肉刺激试验也通常选用家兔。这些试验有助于确保一种新的胃肠外制剂不会给人体造成不必要的痛苦或组织伤害。它们对于研发潜在副作用最小的新的胃肠外制剂也是有用的。在静脉刺激试验中,药物治疗组与对照组的家兔均通过耳侧静脉注射给药。之所以选用家兔是因为其耳侧静脉够大、够长,

而且非常明显,便于注射,也容易识别注射部位便于随后的组织学检查取样。在注射过程中观察动物的反应,注射结束后还应定时观察(如每隔2~4h),以确定注射过程中是否引起了不适以及注射部位是否出现了红、肿、痛的表现。注射后24h,处死动物,取注射部位的静脉进行组织学检查以确定是否引起了组织损伤或炎症。

在典型的肌肉刺激试验中,给雄性组的家兔肌肉注射1.0mL的药物,或对照组用23号针垂直插入骶棘肌为15~20mm。注射部位用墨水在周围画圈以示标记。注射过程中注意观察动物,之后每天观察一次,连续观察7d,以确定注射过程中是否引起了不适以及注射部位是否出现了红、肿、痛症状。注射后第1天、第3天、第7天,取血液标本测定磷酸肌酸激酶活性。这种酶血浓度的升高提示肌肉损伤。同样,注射后第1天、第7天,处死每组部分家兔,取其注射部位周围的肌肉组织进行组织学检查,确定是否引起了组织损伤或炎症。

## 3. 亚慢性和慢性毒理

重复给药毒性研究用以确定重复给予比在急性毒性试验中更低的剂量时,该药物会出现怎样的副作用,并确定该药物用于初始人体临床试验的安全剂量。这类研究的持续时间从1~2个月到1~2年不等。到底需要多长的时间主要取决于治疗的持续时间以及计划采用的临床给药方案(在政府指导原则中将进一步讨论)。这类研究是分期进行的,因此一项研究的结果可用于设计之后持续时间更长的研究。一般而言,第一项研究为期2周,之后的研究分别为期1月、3月、6月和1年。亚慢性和慢性毒理平行研究通常在两种动物种属中进行,一般选用大鼠和犬,因为这两种动物相关的历史资料比较齐备,且它们容易合作,圈养起来相对经济,也容易从供货商处买到。但一些特殊情况也要求必须选用其他种属的动物。例如,若某种药物在犬身上引起大量呕吐,犬对致吐作用是特别敏感的,因而有必要再选用其他一些非啮齿类动物,如猴子。同样,若发现某种药物在大鼠或犬体内的吸收或代谢过程与人体内明显不同,那么这类动物就不能合理地预测该药物在人体内的毒性,因此有必要再次选用另一种动物。

亚慢性和慢性毒理研究的常用方案包括,各动物组两种性别的数量应相同,予以的药物至少应有三种剂量水平,还应设置安慰剂组或其他对照组。至少每天观察动物一次,以发现提示毒性的临床指征。不断测定动物的体重和进食量。这三种参数——临床表现、体重和进食量是非常敏感的毒性指征。完整的血液学和血清化学检查结果至少应在给药结束时确定,有时还应在给药期间每隔一段时间测定。兽医或经过训练的技术员应定期对动物进行全面的体格检查。在选用了犬的试验中,通常还应定期记录心电图检查的结果。在给药期结束时,在兽医病理学专家的监督指导下,对所有动物进行全面的尸检。然后兽医病理学专家对动物组织进行全面的镜下观察,以发现组织中是否存在用药引起的形态学变化。在某些情况下,还应保留药物治疗

组的动物在用药结束后继续生存一段时间,以确定与药物相关的改变是否会在停药后消失。

如上所述,亚慢性和慢性毒理研究的结果有助于确定初始人体临床试验应采用剂量。为了达到这一目的,每次研究都应确定不会引起毒性的最小剂量(即无毒性反应剂量),并根据动物种属采用不同的安全性评价因子。例如,大鼠的无毒性反应剂量以10来划分,而犬的无毒性反应剂量以6来划分,以准确估计初始的人体剂量。这些因子是源于观察发现,与人类相比,实验动物通常能耐受更高剂量的药物或其他化学物,而不会表现出毒性反应,且随着基础代谢率的不同,对药物的耐受程度也有差异,而基础代谢率也随着体表面积/体重而变化。这一比值相对于人类而言,在大鼠身上的变化因子约为10,在犬身上约为6。亚慢性和慢性毒理研究得出的对毒性作用的描述使得那些操作临床试验的临床医生可以事先了解可能出现的副作用以保护志愿者的利益。

#### 4. 生殖毒理

生殖毒理涵盖了生殖的全过程,从交配到妊娠、分娩、断乳,有时甚至还包括后代的生殖功能。这类研究最常用的动物种属是大鼠和家兔,虽然在某些特殊环境下也可能用到其他种属,如小鼠、犬或猴。通常需要开展一系列的研究以涵盖所有的生殖阶段。在每项研究中,通常设置未治疗的对照组和两个或三个药物治疗组。

第一类典型研究常在大鼠身上进行,可提供有关生育能力和一般生殖功能的信息,特别是有关性腺功能、发情周期、交配行为、受孕率以及孕早期的信息。这类研究通常指的是生殖力的研究。在发育成熟的雄性大鼠交配前,予以试验药物治疗28d。只要结合了全面的睾丸组织学检查,一般认为这段时间足以检测出药物对男性生殖器官的影响。在雄性动物中开展的这种生育力研究应在大规模(Ⅲ期)的男性人体试验之前进行。通常雌性大鼠用药14d后才能和治疗后的雄性大鼠交配,然后每天进行阴道检查,若发现精液或交配栓则认为是受孕第0天。雌性大鼠在第13天被处死,测定存活和死亡的胚胎数量、着床部位的数量以及卵巢中黄体的数量。也可允许部分雌鼠正常分娩,对新生小鼠进行计数、身体检查、性别鉴定及称量。第4天和第12天(断奶)时,再次对新生小鼠进行称量和计数。在该试验中,将子宫角着床部位的数量与各卵巢中黄体的数量相比,可确定着床前死亡数;将再吸收部位的数量与子宫内着床部位的数量相比,可确定着床后死亡数,此外还可确定子代的存活率及发育情况。若临床实验需要纳入育龄期妇女,那么通常都应在此之前开展这项研究。但在美国 and 欧洲,已证实未怀孕且采用了有效的避孕措施的育龄期妇女,可以在女性生育能力试验完成以前就进入I期和II期(通常为小规模)研究。

第二类典型研究,即通常称为畸形学的研究,常在两类动物中进行,即大鼠和家兔。自20世纪60年代早期出现的一次镇静剂悲剧后,家兔便常作为第二种动物用于第2

段研究。自那次悲剧以后,人们发现与其他常用的实验动物相比,家兔对镇静剂的致畸作用更加敏感,镇静剂是少数的已证实的人类致畸因子之一。在第2段试验中,已授精的雌性动物仅在器官形成期接受药物治疗,对于大鼠和小鼠这一时期为妊娠第6~15天,对于家兔则是妊娠第6~18天。分娩前一天,处死雌鼠,经剖腹产术取出胎鼠,对胎鼠进行称量、性别鉴定并检查是否存在明显可见的异常情况。然后将各治疗组的胎鼠随机分成两组。一组被保存在固定溶液中以备随后的软组织检查;另一组中,清除组织并将骨骼染色以待骨骼检查。本研究的主要终点为活胎和死胎的数目、胎鼠的性别比、胎鼠的体重、明显可见的异常情况,以及软组织和骨骼的异常检测结果。该试验程序基于普遍公认的原则而确立,即胚胎在其器官形成期是最容易受到各种诱因的影响而出现出生缺陷的。雌鼠之前的药物暴露,如第1段试验,可导致不育或解毒机制的提升,从而低估了药物致出生缺陷的潜在副作用。试验中单独设立了一个阶段以专门评价出生缺陷的发生率。在欧洲和日本,这项研究常应在开展涉及了育龄期妇女(证实未受孕且采用有效的避孕措施)的人体试验之前完成,而在美国,则应在开展涉及了妇女的大规模III期研究之前完成。

第三类典型研究即所谓的围产期/出生后试验。在这类研究中,妊娠的雌性动物在最后1/4妊娠期内以及从哺乳到断奶期间接受药物治疗。将刚断奶的动物进行尸检,以确定是否存在任何内部异常。该研究的目的是确定药物对胎儿发育后期、产程、分娩、哺乳、新生儿的成活力及发育情况的影响。该研究还评价了母乳中分泌的药物对新生儿的潜在影响。该研究的终点是新生儿的存活数和死亡数、新生儿的性别比、出生后第4天和第21天仍存活的新生儿数目、新生儿的生长和发育情况。新生儿出生后的检测通常包括发育指数,如下列事件的出现时间(出生后多少天):男性龟头包皮分离、女性阴道张开、睁眼、耳郭张开及门牙长出。此外,还常包括反射的出现以及学习能力和记忆力的检测。也可检测子代的生殖能力。在生育力和一般生殖能力的研究中,药物引起这些终点改变的潜在副作用常因为不育而被掩盖,因为不育导致了子代数目不足,难以发现这类改变。这项研究必须在药物申请上市之前完成。

#### 5. 致突变作用

常规通过体外试验,对新药引起基因突变和(或)染色体畸变的潜在副作用进行筛选。大多数的监管机构还要求开展体内试验。一般只有在体内试验提示非结论性的或可疑的阳性结果时,才在整体动物中开展进一步的致突变性试验。若一种新药在体外致突变性试验中显现出强阳性反应,那么可能将停止该药物的研发。体内试验可用于确定某种药物是否具有在近似于临床的条件下引起遗传学改变的潜在作用。这类研究对于药物安全性的意义是双重的。首先,一种可引起遗传损害的药物也能在患者的精液或卵

巢里产生同样的损害,因而在该患者的子女中很有可能引起遗传异常。其次,现已普遍公认任何能够引起遗传损伤的药物都可能是一种致癌物质。最常用的检测遗传损伤的体内试验为在小鼠或大鼠身上进行的染色体损伤试验和显性致死试验。

可通过骨髓细胞遗传学分析和骨髓微核分析,在小鼠和大鼠中评价染色体损伤。在这两种方法中,以单次大剂量或多次(2~4次)每日给药之后,对动物的骨髓进行检测。在单次大剂量给药后,分别在给药后6h、24h及48h采集骨髓进行细胞遗传学分析,或者分别在给药后24h、48h和72h采集骨髓进行微核测定。在多次重复给药后,末次剂量后6h或24~30h采集骨髓,分别用于细胞遗传学分析或微核测定。对于细胞遗传学分析,动物在安乐死前2~3h接受秋水仙碱药物治疗,目的是对处于细胞分裂中期的骨髓细胞进行阻断。采集股骨髓并固定,制备中期分裂相载玻片。Giemsa染色后,测定染色体的数目以及它们在中期分裂相的正常和异常表现。在微核试验中,股骨髓涂片用Giemsa染色或荧光染料。例如,吖啶橙染色后,测定含有微核的多染性红细胞的数目。正常多染性红细胞不含有细胞核。在红细胞成熟的过程中,在进入多染性红细胞期之前细胞核就已经被逐出了。微核代表细胞核被逐出后遗落在细胞中的染色体或染色体碎片。

显性致死试验用于检测药物对于男性生殖细胞的致突变性损伤。该试验的理论基础在于,若受精卵里存在大量的染色体,这些染色体受到损伤时可引起妊娠早期内死亡。因此,相对于基因组的靶大小足以用于显性致死试验,因而该试验成为遗传损伤的敏感指征。在该试验中,雄性动物(通常为大鼠或小鼠)每日接受药物治疗一次,连续治疗5d。然后与另一组雌性动物配对,每周一次,连续8周。这8周的间隔期涵盖了整个生精周期。妊娠中期处死雌性动物,也就是每周交配中期后14d左右。尸检时进行子宫检查并计算黄体数目、存活的着床胚胎及死亡的着床胚胎。该试验终点为:①着床前丢失的数目,即黄体数目减去着床数目;②死亡的着床胚胎数目。与安慰剂或历史对照水平相比,引起着床前丢失数目或死亡的着床胚胎数目增加的药物被认为是显性致死试验阳性。由于设立了连续的交配方案,因此只要得出了阳性结果就有可能辨别出生精周期的哪一个阶段受到了影响。

目前已有多种转基因动物模型可用于体内致突变性试验。其中最为常用的是Big Blue™和Muta™小鼠模型。人们在这些动物的基因组中插入了*E. coli*半乳糖苷酶操纵子片段。在致突变性试验中,当这些动物接受试验化学药物的治疗时,该细菌性DNA就成为试验的靶点。化学药物治疗后,将该细菌性DNA从组织中移出,包装进入细菌病毒(噬菌体)颗粒中。噬菌体是用来感染生长在琼脂平板上的细菌的。细菌繁殖形成菌落后可以计数。由于半乳糖苷酶蛋白可催化产生显色反应,因此在细菌菌落中形成的显色反应可用于评价在经治小鼠实质性组织的靶DNA中,是否形成了突变。

## 6. 致癌作用

致癌性生物检测是一项在小鼠和大鼠中开展的长期研究,通常参照国立癌症研究所<sup>[10]</sup>及国际协调会议<sup>[11]</sup>制定的标准指导原则进行。在这类研究中,小鼠一般需要反复治疗18~24个月,大鼠需要24个月。给药途径与预期的临床途径相一致。此研究设计通常包括安慰剂对照组和两个或三个药物治疗组。选择动物可耐受的最高剂量作为药物的最大剂量。这一剂量可以引起非常微小的毒性反应表现,但在体重增加方面,该剂量所引起的减少量不能超过对照组的10%,且不应引起毒性,与癌性反应有关的毒性除外,这种毒性预示动物的自然寿命将缩短。有必要对这一大剂量进行试验,测试该剂量新药引发癌症的最大可能性。经常检查动物是否出现了可触及的包块。在治疗期结束时,对动物进行尸检,并对其组织进行组织学检查。组织学检查中特别需要注意检测和发现肿瘤组织。最近已培育出一类转基因小鼠株,采用这类小鼠能够在6个月的治疗期内检测出致癌反应,而不再需要两年。这类小鼠包括P53+/- (P53 Knockout)、TG.AC和VasH2小鼠模型。在这些动物中,有关抑制肿瘤形成的基因均已缺失。采用这类动物模型之所以合理是基于这样的事实:已知这些相同的基因与许多人体肿瘤有关。因此,认为在这些动物中致癌反应增加的机制与人体内肿瘤的出现有关。

## 7. 初次刺激试验

若某种新药涂抹于皮肤或眼睛,需要开展的第一轮试验之一就是确定该药或配方中含有的药物是否会引起皮肤或眼睛的刺激反应。即便该药物将仅用于皮肤涂抹,但由于也可能不慎接触到眼睛,因此仍然需要进行眼刺激试验。例如,一种用于痤疮局部治疗的抗生素涂抹于脸上,那么该药物接触到眼睛的可能性就相当大。这类试验通常选用家兔为试验对象,因为人们公认家兔对于皮肤和眼睛的刺激非常敏感,且科学文献也对在家兔中开展这样的试验进行了描述。其他动物种属,如豚鼠或小鼠,在某些特殊情况下也可用于皮肤刺激试验。

一项典型的皮肤刺激试验程序如下。剪去六只雄性白化兔后背的毛发。保留一个区域的皮肤完好无缺,而另一皮肤区域用皮下注射针的针尖刮擦成井字棋的图案,其目的是切开浅表的真皮层而不引起出血。试验材料,0.5mL液体或0.5g固体或半固体,分别涂抹于两处皮肤,之后盖上1in×1in(1in=2.54cm,下同)的砂布垫。然后将动物的整个躯干用一种密封性较好的材料包裹,并用带子栓于某处。24h后,取下皮肤上的覆盖物并擦掉多余的药物。初次用药后24h和72h对皮肤反应进行评分。评分标准参照表2列出的方案。

分别记录6只白化兔身上未受损的和刮擦后的皮肤表面,24h和72h后红斑和焦痂形成的均值(4个值)。分别记录六只白化兔两处皮肤24h和72h后水肿的均值(4个值)。8个值的总分除以4即计算出初次刺激指数。若结果

大于或等于 5, 则提示该药物为阳性刺激物<sup>[12]</sup>。

表 2 皮肤刺激评分体系

皮肤反应	分值 <sup>1)</sup>
红斑和焦痂形成	
无红斑	0
非常轻微的红斑 (几乎不可见)	1
分界清楚的红斑	2
中至重度红斑	3
重度红斑 (甜菜根红) 至轻微焦痂形成 (深度损伤)	4
水肿形成	
无水肿	0
非常轻微的水肿 (几乎不可见)	1
轻度水肿 (明显隆起, 分界清楚)	2
中度水肿 (抬高约 1mm)	3
重度水肿 (抬高超过 1mm 且扩散至药物暴露区域以外)	4

1) 每次读数的记录分值为 6 只或 6 只以上受试动物的平均值。

一项典型的眼刺激试验程序如下。试验前 24h 对六只同性别的白化兔进行全面的眼科检查, 以确认其无任何已形成的眼损伤。牢固但轻柔地拴住动物。将试验制剂涂抹至每只动物的一只眼睛中: 轻轻拉下动物的下眼睑, 使其不与眼球接触, 形成一个近似杯子的区域 (结膜穹隆), 这个区域即是滴入试验试剂的区域。再将动物的眼睑轻轻合上约 1s, 然后放开动物。另一只眼不接触药物, 作为对照。若试验制剂为液体, 则使用 0.1mL; 若为固体、膏剂或微粒状物质, 则用药体积必须为 0.1mL, 且其质量不能超过 100mg。用药后 24h、48h 和 72h 对每只白化兔双眼进行检查。在第 24h 的那次检查后, 可以用自来水或盐水冲洗白化兔用药的那只眼睛。此时, 也可在荧光染色的帮助下检查双眼。将一滴荧光素钠眼科溶液 USP 直接滴至角膜上, 再用自来水或盐水冲走多余的荧光素, 受损的角膜区域即变成黄色, 在紫外线照射下可清楚地辨认。每次检查时, 均应对每只白化兔的眼反应进行评分。评分标准参照表 3 列出的方案。

表 3 眼刺激评分体系

眼反应	得分
角膜	
无溃疡或浑浊	0
分散或弥散的混浊区域 (除外正常光泽的轻微暗沉、虹膜内容物清晰可见)	1 <sup>1)</sup>
轻易可辨的半透明区域, 虹膜内容物轻度模糊	2
贝母云区域, 无虹膜内容物, 瞳孔大小几乎无法辨认	3
角膜浑浊, 通过浑浊区, 虹膜无法辨认	4

续表

眼反应	得分
虹膜	
正常	0
皱褶显著加深, 充血, 肿胀, 角膜周围中度充血, 或充血, 出现这几种现象中的任何一种或几种, 虹膜对光仍有反应 (反应迟钝定为阳性)	1 <sup>1)</sup>
无光反应, 出血, 完全损害 (这几种现象中任何一种或几种)	2
结膜	
血管正常	0
一些血管有明显充血	1
呈弥漫性充血, 绯红色, 单个血管不易辨别	2 <sup>1)</sup>
呈弥漫性充血, 牛肉红	3
无肿胀	0
任何非正常的肿胀 (包括瞬膜)	1
明显肿胀伴局部眼睑外翻	2 <sup>1)</sup>
肿胀, 眼睑约一半闭合	3
肿胀, 眼睑闭合超过一半	4

1) 在这些数值或以上的读数则表示呈阳性反应。

若在观察的任何阶段, 有 3 只或 3 只以上的动物呈现阳性反应, 则认为该试验呈阳性。若试验出现可疑结果, 则应再做一次试验。出于人道主义原则, 皮肤刺激试验已证实具有腐蚀性或严重刺激性的制剂, 将被直接认定为眼刺激物, 无须再做眼刺激试验<sup>[13]</sup>。

## 8. 抗原性试验

某些新药可能需要接受抗原性试验, 这取决于其化学结构 (由于与已知的致敏物质结构相似, 因而被怀疑也是一种致敏物质) 或该药物的计划用途。作为局部用药的制剂通常需要检测其迟发性接触性过敏反应。但当新药作为全身用药时, 有时还需要检测其诱发过敏性反应的潜在可能性。这类试验通常在豚鼠身上进行, 但有时也选用大鼠或小鼠。

对于豚鼠而言, 现有多种标准方案可用于评价药物的迟发性接触性过敏反应。一套典型的程序为: 令 10 只豚鼠致敏, 每只豚鼠分别注射 0.1mL (首次注射用 0.05mL) 0.1% 试验物质的混悬液或溶液, 皮内注射, 注射区域为豚鼠的上背部, 每周 3 次, 共注射 10 次。另有两组豚鼠采用相似的方法致敏, 注射药物分别是一种阳性对照物, 如二硝基氯苯及一种阴性对照物 (盐水)。第十次注射后约两周进行刺激性注射, 即分别在动物的后腰部皮内注射 0.05mL 试验制剂、阳性对照物或盐水。每次注射前至少剃刮动物 18 次。每次致敏性及刺激性注射后 24h 和 48h, 对注射部位周围的皮肤区域进行红斑及水肿评分。评分标准参照表 4 列出的方案。



表4 皮肤过敏反应评分方案

皮肤反应	得分
红斑和焦痂形成	
无红斑	0
非常轻微的红斑（几乎不可见）	1
分界清楚的红斑	2
中至重度红斑	3
重度红斑（甜菜根红）至轻微焦痂形成（深度损伤）	4
水肿	
无水肿	0
非常轻微的水肿（几乎不可见）	1
轻度水肿（明显隆起，分界清楚）	2
中度水肿（抬高约1mm）	3
重度水肿（抬高超过1mm且扩散至药物暴露区域以外）	4

分别记录红斑和水肿的得分。计算每只动物每次致敏性注射和刺激性注射的皮肤刺激得分，计算方法为：24h和48h的红斑及水肿得分（4个分值）相加后再除以4。根据初次致敏性注射和刺激性注射得出的皮肤刺激得分可用于确定药物是否产生了致敏作用。若某一只动物的刺激性得分超过了初始刺激得分1分或1分以上，即可认为该动物被致敏。

在豚鼠或大鼠中进行的主动全身过敏试验（ASA）和被动皮肤过敏试验（PCA）均可评价药物诱导过敏反应的潜在可能性<sup>[14,15]</sup>。在这两种试验中，试验药物、阳性及阴性对照物均以皮下注射或经腹腔注射的方式给药，每周注射3次，共注射6次，注射对象为三组实验动物，每组分别由6~10只动物组成。在ASA试验中，末次致敏注射后2周进行刺激性注射，刺激性注射采用静脉内给药的方式，分别注入相应的试验药物或阳性或阴性对照物，并观察是否出现了任何过敏性反应的征象。分级标准如下：

- 阴性 无过敏性症状；
- 轻度 烦躁不安、刮弄鼻或耳、咳嗽、呼气加速或竖毛；
- 中度 排尿、排便、呼吸困难或共济失调性步态；
- 重度 抽搐，之后能恢复；
- 致命性 致命性过敏反应导致死亡。

在PCA试验中，末次致敏注射后2周采集被致敏动物的血清。用盐水稀释血清，至少稀释至原有浓度的1/8，将稀释后的血清皮内注射至之前未用药的豚鼠背部。4h后，在这些豚鼠身上静脉注射1.5~2.0mL含0.5%偶氮蓝的盐水及各自相应的试验药物或阳性或阴性对照物。静脉注射后30min，检查动物是否在之前皮内注射部位周围出现了蓝色的皮肤区域。直径为5~10mm的蓝色区域即提示阳性反应。

## 9. 政府要求

政府监管机构，如美国食品药品监督管理局（USFDA），

已制定出相关指导原则，描述应在动物中开展的新药安全性试验类型，只有通过了这类试验该新药才能获准开展临床试验，并最终获得新药的上市批准（NDA）。前面已经提到了开展生殖毒性、致突变作用、致癌作用、刺激反应及致敏反应研究的基本原理及详情。表5和表6总结了计划用于人体的药品所必须开展的急性、亚急性和慢性毒性研究的要求。这些描述仅涵盖了美国、日本和欧洲的要求，因为这些地区代表了现今世界上最大的药品市场。国际协调会议已对这些要求进行了讨论，目的是在这三个地区之间达成一致的意见<sup>[16]</sup>。I、II、III期指的是人体临床试验的三个不同阶段。I期指的是初始试验，仅用一剂或少数几剂药物确定药物的吸收、药动学过程，并做出初始的安全性评估。II期指的是稍大规模的研究，用以确定药物的安全性并进行临床疗效的初步评价。III期指的是最终的大规模的多中心试验，旨在确立药物的临床疗效。

表5 支持欧洲I、II期临床试验及美国和日本<sup>1)</sup>的I、II、III期临床试验的重复给药毒性试验的时间

临床试验的持续时间	重复给药毒性试验的最小持续时间	
	啮齿类	非啮齿类
单次给药	2~3周 <sup>2)</sup>	2周
达2周	2~4周 <sup>2)</sup>	2周
达1个月	1个月	1个月
达3个月	3个月	3个月
达6个月	6个月	6个月
6个月	6个月	长期 <sup>3)</sup>

1) 在日本，若没有与计划的III期试验在持续时间上相当的II期临床试验，应考虑进行持续时间更长的毒性研究，详见表6。

2) 在欧洲和美国，研究的最短持续时间是2周。在日本，非啮齿类需要2周，啮齿类需要4周。在美国，检测范围更广的单剂毒性试验可代替为期2周的那种研究，以支持单剂量人体试验。

3) 临床试验开始前至少3个月，必须备有非啮齿类动物用药6个月后的试验资料。或者，如果可行的话，在治疗持续时间超过已有毒性试验所支持的时间之前，必须备有非啮齿类动物用药9个月的试验资料。

表6 支持欧洲III期试验及所有地区的上市申请的重复给药毒性试验时间<sup>1)</sup>

临床试验的持续时间	重复给药毒性试验的最小持续时间	
	啮齿类	非啮齿类
达2周	1个月	1个月
达1个月	3个月	3个月
达3个月	6个月	3个月
3个月	6个月	长期

1) 还反映了这三个地区的上市推荐意见，除外建议非啮齿类动物的长期研究用于临床时>1个月。

## 实验动物的管理

正确管理用于研究的实验动物是确保研究结果有效性

# D

及可重复性的基本要求。从动物供应商开始,用于药物研究的动物就应该以最严格的标准来进行管理。对于最常用的实验动物来说,这些管理标准一般都适用于动物的整个生命阶段。研究动物管理指南由美国卫生与公众服务部提供。美国实验动物管理认证协会提供实验室是否符合该指南要求的认证服务。所有著名的药品研发工业机构都在力争取得并维持该协会的认证。

## 1. 实验动物来源

工业生产中用于药物研究的实验动物事实上通常都从一些著名的动物供应商手中获得。他们所供应的动物都是遵守了严格的标准管理出来的。采用未经正确管理的动物常常会在药物研发中造成时间的浪费——因此也就带来了经济损失。

以下列举了部分实验动物供应商:

Charles River Labs  
251 Ballardvale St.  
Wilmington, MA 01887-1000  
[www.criver.com](http://www.criver.com)

COVANCE Research Products  
R. D. No. 2  
Swampridge Rd.  
Denver, PA 17517  
[www.covance.com](http://www.covance.com)

Harlan Sprague Dawley  
P.O. Box 29176  
Indianapolis, IN 46229-0176  
[www.harlan.com](http://www.harlan.com)

Jackson Laboratories  
600 Main St.  
Bar Harbor, ME 04609  
[www.jax.org](http://www.jax.org)

Kuiper Rabbit Ranch  
5317 W 41st St.  
Gary, IN 46468

Marshall Farms USA, Inc.  
5800 Lake Bluff Rd.  
North Rose, NY 14516

Taconic Farms  
273 Hover Ave.  
Germantown, NY 12526  
[www.taconic.com](http://www.taconic.com)

美国特许动物经销商的完整清单可从实验动物网上获得 (<http://guide.labanimal.com>)。

## 2. 政府指南

1966 年颁布 (公共法律 89-544) 并于 1970 年 (公共法律 91-579) 及 1976 年 (公共法律 94-279) 两度修改的动物福利法案中所包含的条款,确保了那些用于研究目的的动物能够受到人道的关怀及对待。实施细则见美国联邦法规 (CER) 第 9 章《动物及动物制品》A 节——动物福利中 1、2、3 部分。

美国卫生与公众服务部公布了实验动物管理及使用指南,出版号 No. (NIH) 78-23。这是由美国国家研究院实验动物资源协会实验动物管理与使用委员会制定的。该指南包括了关于畜舍、卫生设施、饲养、兽医服务、人员要求、个体卫生、职业健康及物理设施的推荐意见。

美国国家卫生研究院 (NIH) 要求授权方和合同方在由 NIH 资助的研究项目中必须采用活的脊椎动物进行试验,并必须遵循指南规定的指导原则。公共卫生服务部进一步要求提出申请的机构必须获得美国实验动物管理认证协会 (见下文) 的认证,或必须建立一个能评价其动物设施及指南遵循情况的机构委员会。

## 3. 美国实验动物管理认证协会 (AAALAC)

AAALAC 是一个非盈利性的组织,它由组织成员中 24 个科学和专业团体的代表所管理。该组织于 1965 年成立,目的是开展一项认证实验动物管理设施及计划的自愿项目。AAALAC 鼓励科学界提供一个可供同行评价动物管理计划的机制,以对实验动物进行最佳的管理。人道地对待实验动物、保护人员免受与动物使用相关的危害、控制可对动物研究带来负面影响的变量均为该认证项目的主要目的。两位实验动物学的专家对申请机构的动物管理设施进行走访并全面调查后,将向评定委员会提交一份详尽的报告。根据实验动物管理与使用指南中列举的标准,委员会将决定是否授予 AAALAC 认证。获得认证的机构每年要向 AAALAC 提交一份有关其动物设施情况的报告,且至少每三年对认证机构实地复查一次。年度报告和实地复查将决定其认证资格是否可维持。只要确认该动物设施是依照 NIH 对实验动物的相关政策进行评价的,NIH 将承认 AAALAC 的全面认证。

## 参考文献

1. Cohen, B. J.; Loew, F. M. Laboratory Animal Medicine: Historical Perspectives. Laboratory Animal Medicine; Fox, J. G., Cohen, B. L., Loew, F. M., Eds.; Academic Press; Orlando, 1984; 1-17.
2. Lane-Petter, W.; Pearson, A. E. G. The Laboratory Animal; Principles and Practice; Academic Press; London, 1971; 1.
3. Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of Chemicals, Part 1. Environmental Health Criteria 6, World Health Organization, Geneva, 1978; 35-36

4. Turner, R. A. *Screening Methods in Pharmacology*; Academic Press; New York, 1965.
5. Turner, R. A.; Hebborn, R. *Screening Methods in Pharmacology*; Academic Press; New York, 1971; II.
6. Nodine, J. H.; Siegler, P. E. *Animal and Clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation*; Year Book Medical Publishers; Chicago, 1964.
7. Tedeschi, R. E.; Tedeschi, D. H.; Kitchens, J. T.; Cook, L.; Mattis, P. A.; Fellows, E. J. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 1959, 126, 338—344.
8. Zak, O.; Sande, M. A. *Experimental Models in Antimicrobial Chemotherapy*; Academic Press; New York, 1986; 1—3.
9. Godlin, A.; Venditti, J. M.; Carter, S. K. *Screening at the National Cancer Institute. Methods of Development of New Anticancer Drugs*; Saunders, J. F., Carter, S. K., Gregoric, F. I., Eds.; NCI Monograph No. 45, DHFW Publication No. (NIH); 1977; 76—1037, 37—48.
10. Sontag, J. M.; Page, N. P.; Saffiotti, U. *Guidelines for Carcinogen Bioassay in Small Rodents*, National Cancer Institute Carcinogenesis Technical Report Series No. 1, DHEW Publication No. (NIH) 76—801, 1976.
11. International Conference on Harmonisation; *Guidance on Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals*. Federal Register 1998, 63 (35), 8983—8986.
12. Oilman, M. R. *Skin and Eye Testing in Animals. Principles and Methods of Toxicology*; Hayes, A. W., Ed.; Raven Press; New York, 1982; 209—222.
13. Interagency Regulatory Liaison Group, *Testing Standards and Guidelines Work Group. Recommended Guideline for Acute Eye Irritation Testing*; 1981.
14. Broder, I. *Anaphylaxis. Inflammation, Immunity and Hypersensitivity*; Movat, H. Z., Ed.; Harper & Row; New York, 1979; 320—335.
15. Ovary, Z. *Passive Cutaneous Anaphylaxis. Immunological Methods*; Ackroyd, J. R. A., Ed.; F. A. Davis; Philadelphia, 1964; 259—283.
16. International Conference on Harmonisation *Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals*. Federal Register 1997, 62 (227), 62922—62925.

(宋浩亮 译)

D

# D

## 对受控生产过程的微生物监控

Gregory F. Peters

Marghi R. McKeon

Lab Safety Corp., Des Plaines, Illinois, U. S. A.

### 引言

许多标准和守则要求对受控药品和内科装置的生产以及药房配药过程进行微生物监控<sup>[1~3]</sup>，尽管没有明确规定相关的监控程序、范围和频率<sup>[4]</sup>。因为微生物采样的许多特性限制了它作为一种监控方法的价值，在受控环境中发现污染物需要有经过精心设计和实施的采样计划，以得到证实运行环境可接受的可靠数据。

对任何受控程序的监控是整个闭环系统的一个组成部分，以保证对关键过程的连续操作与经过验证的设计条件一致。要达到这个目标，必须设计和实施一个监控计划，并依据认证和监控方案进行评估。所有的结果必须与原始的认证过程相关，或作为在可接受的范围内继续运作的证据，或作为发现影响产品质量过程变化的方式。理想地说，监控结果还能提供这些改变的原因信息。

必须明确质量管理验证及监控系统的监控计划目标，这样得到的信息才能和系统目标相关。在设计采样计划和分析结果时，必须考虑到采样设备和方式的局限性。我们还必须了解造成各种监控结果改变的潜在原因，以便设计有效正确的行动计划。

### 认证和监控的基本原理

有关制药无菌过程验证的管理要求是明确的<sup>[6]</sup>。普遍接受的质量保证原则要求一开始就对任何过程的有效性进行论证（验证）。然后，进行常规和周期性观测以验证过程在符合验证的条件下持续运作（监控）。

验证通常包括对一系列“最差情况”过程的模拟，其中用无菌生长培养基替代产品证明过程能够不断地生产出质量可接受的产品<sup>[6]</sup>。在过程认证阶段（PQ）中，各种影响产品质量的可变条件必须得到明确规定、控制、监控和记录，并且合理假设，只要所有的可变因素都在控制之下复制认证的条件，过程将生产出和 PQ 过程相同质量的产品。这种假设是建立在通过各种来源收集到的监控数据之上的。因此，假定产品质量可接受的有效性取决于监控数

据衡量可变过程控制的可靠性。

#### 1. 验证方案

验证方案应该规定生产或混合过程，其目的是希望能对产品质量产生积极影响以及如何来证明这种影响。方案应该包含以下几个部分：

- 对产品和适用放行标准的描述，包括 AOQL/ROQL。
- 确保过程完整性的设备设计原理，包括鉴定和消除那些难以清除而且不容易接近的区域（难以去污），计算洁净区的工程控制以及这些控制手段是如何被运用、测试和监控的。
- 对无菌过程和关键工作面、工作地带和辅助区的图解描述，包括标明微粒洁净度等级<sup>[7]</sup>、微生物目标值<sup>[8,9]</sup>（表 1）以及工程控制装置的验证方法<sup>[10]</sup>。
- 根据行业标准<sup>[3]</sup>和过程要求来选择和验证隔离防护技术以确保相关人员得到充分的隔离。
- 规定无菌技术和操作人员的工作规程，以及在为鉴别和消除人员产生的污染源及鉴别易受影响区域（包括关键位置和步骤以及指示剂位置）而进行的预验证运行过程中根据录像观察实际工作流程得到的报告。
- 描述消毒方法和消毒试剂的验证过程。
- 规定设备和方法以用于确保试验数据的可靠性。
- 所有试验数据包括仪器的校准、测试和验证报告以及统计学认证。

#### 2. 监控计划

在评估所有在 PQ 中收集到的环境监控数据之后，应执行规定了监控程序、场所和频率的监控计划。通过比较产品测试而得到的 PQ 数据与环境 and 过程监控结果，以决定与产品质量变动最相关的监控位置和方法。设计应该：

- 保证对关键点的关键生产和混合过程参数进行特定和定期的监控，建立监控环境和频率，利用它能实施监控，保证为过程控制提供可靠的依据。
- 对过程空气、环境表面和人员隔离及其他相关参数提供标准的和量化的微生物采样。

① 按照美国联邦 F. S. 209b 第 40 和 50 节要求<sup>[18]</sup>，HEPA 过滤器的验证要对过滤器介质、框架和密封装置进行 100% 的严格的气溶胶测试，这种方法的成功测试建立了对从过滤器送出“初气流”的控制，当这接近出风平面的单向流范围内时，优于 I 级的条件。

依据美国联邦 F. S. 209e<sup>[9]</sup>，HEPA 过滤器监控包括从许多代表性位置得到的高散粒子计数的（DPC）读数平均值，并保证单向流进风面的 10 级或 100 级的条件。

- 包括采样位置图、采样量、采样口的高度、方法、仪器和生产操作的频率,以及对结果的统计分析认证方法。
- 包括遵照现有监控信息执行的警告和行动限制标准。
- 包括评估和改进监控计划的系统,确保采集到可靠和有用的数据。
- 包括修改行动计划及验证其有效性的方法。

### 3. 微生物监控的局限性

培养基填充验证试验的最低要求是每 1000 个活菌经过灭菌后存活数不能超过 1 个,代表最低无菌保证水平为  $10^{-3}$  (>99.9%)。这是在已认证产品质量的基础上建立认证和监控计划的唯一最低微生物标准。无菌保证水平表示所有过程设计和控制因素的总体影响,包括采样和伴随的实验室操作程序(但是,这个限度可能并不反映合格无菌过程的真实完整性<sup>[12]</sup>)。所有的其他限度都是用来间接证明过程正如验证的在控制之中的指标。因为所有的环境监控都必须是在生产下游的某点或远离成品进行,所以不管监控如何密集,都不能通过监控程序来取得对产品质量的绝对评估。另外,测试和监控方法并不总能识别出污染源污染产品的途径。

验证微生物监控方法的困难在于缺乏全面的测试标准、可靠的测试设备和依据收集到的样品数据判断产品质量的可靠方法。污染事件和采样方法的一些特性限制了微生物监控作为一种方法确定某批产品是否合格的有效性:

- 在受控设备上发生的微生物污染在时间、空间或按微生物的类型来说经常都不是随机分布的;
- 没有一种采样方法能够重复地以已知和一致百分比复原各种微生物;
- 对大多数检测到的污染来说,一般都有许多可能的来源,其中较重要的是采样人员、设备和实验室操作程序;
- 需要相当长的时间间隔来研究这些结果。

### 4. 观点

这些考虑因素强调了最近的一些担忧,即管理机构可能要求将不可靠的环境监控数据用来作为放行的标准<sup>[15]</sup>。现行的工业标准和管理规则不能也不应该理解为可完全根据环境计数否决一批产品。采用微生物监控是出于实际的原因,而不是因为它是一种发现过程条件变化的理想或唯一的方法。

可以理解,管理机构和审核机构寻找容易分析的数据作为决定产品是否可接受的依据。他们越来越犹豫去接受在没有认证的微生物控制条件下放行的产品。相反,行业内人士不愿建立微生物监控限度,因为管理者可能错误理解这些限度在质量保证过程中的意义,不能满足过程控制限度与不能满足产品规范是不同的。不能满足监控限度意味着只有监控数据不再能够证明验证条件,产品质量可能受到不利的影响。可能需要强化产品试验或执行修正行动,但是不应该仅就 QA 监控结果就推断出要否决一批产品。

### 5. 设置限度

在 QA 方面,制定限度的目的是为了引发具体的行动

或结果。当达到报警(警告)限度时操作人员应该警惕出现恶化趋势的可能性。当超过行动限度时,操作员必须采取行动来鉴别和修正条件。在达到“失控”限度并且数据不能指示过程控制和支持继续生产之前,这些条件会成为进行验证的原因。但是在一个精心设计和执行的过程中,永远不应该超越这个失控的限度,除非在一个关键的过程中控制部分出现一个突发的灾难性故障。

Akers 指出在目前 USP <1116><sup>[8]</sup> 中提出的值是靶值<sup>[13]</sup>。假设这个说法可行,可以很合理地认为这些值是操作靶水平,而不是产品质量控制的限度。设定报警限度、采取行动限度和失控限度有几种模型,尽管许多模型只为了建立报警和行动限度<sup>[14]</sup>(也可用其他术语)。将目前的一种模型进行扩展<sup>[14]</sup>,可认为报警限度为 95%。通过趋势分析实际数据可以计算出这个限度,同样可以将 97% 作为行动限度,99% 作为失控限度。尽管这个模型最初设定的目的只是为了建立一个限度,这些限度应该建立在历史数据和监控结果和产品质量之间的相关评价的基础之上。数据分析应该包括对监控方案和限度的评估和修正机制。

如果关键环境和操作的随意性可以得到有效的控制,结果会在正常的预期操作水平之内<sup>[8,9]</sup>(表 1),置信度达 95%。如果从成功的 PQ 运行中(此时过程确认受控)获得的数据不能满足这个标准,那么监控方法可能不能衡量一个和过程控制直接相关的现象,可能不能足以重复提供有用的信息,也可能被不准确地执行。我们应该尽一切努力去开发符合操作期望的监控方案,使得数据有用。

最初的结果可以通过计算获得,并且和任何不成功试验的结果作比较。这些限度最后要根据历史数据(图 1)进行调整。当评估数据以调整限度时,Wilson<sup>[14]</sup>指出“包括从一段过程失控期间获得的异常高计数将导致不恰当高的报警/行动限度”。

### 6. 进行采样

质量管理和采样人员需要对环境采样规程有深刻的理解,也要对常用的设备、原料、采样技术和研发方法有透彻的理解。应该仔细设计报告格式以传递所有相关信息,包括技术员的身份、采样点(一个标准的采样点布置图)、日期和时间、培养基(包括批号、失效期和认证期)、方法、采样时间和仪器(包括校准日期和序列号)。此外,诸如产品批号、人员的数目和名字、流水线生产速率、流水线其他介入因素的数目和性质,以及其他如房间压力及其他监控状态读数等可用的监控数据都应该予以记录。应该记录任何观察到的相对于标准操作程序(SOP)的偏差,并报告给负责培训和管理操作人员的相关人员。当评价这些偏差对结果的影响时,有必要重复采样。

采样和实验室人员必须在理论上和技能水平方面都非常称职,而且必须制定和实施完美的无菌技术<sup>[13]</sup>。应该建立规定所有监控步骤的培训计划和操作程序,包括穿无菌衣、样品的准备、无菌取样技术、试样回收与处理和运输,以及无菌样品培养的实验室技术。实验室 QA 计划应该保

表1 过程监控目标/频率

功能/过程	清洁度等级 <sup>1),2)</sup>				监控频率				C. F. U. <sup>3)</sup> 目标										
	100 级 <sup>1)</sup>	10 000 级 <sup>1)</sup>	100 000 级 <sup>1)</sup>	M 3.5	M 5.5	M 6.5	每班 每日	每周 两次	每周	<0.1 /Fl. <sup>4)</sup>	<0.5 /M <sup>4)</sup>	<2.5 /Fl. <sup>4)</sup>	<3.0 /M <sup>4)</sup>	<20 /M <sup>4)</sup>	<100 /Fl. <sup>4)</sup>	3/培 养皿	5/培 养皿	10/培 养皿	20/培 养皿
关键工作表面 <sup>5)</sup>	•		•				•			A			A			S			
辅助区 <sup>5)</sup>		•			•		•				A			A			S		
其他辅助区 <sup>5)</sup>			•			•		•				A			A				
其他可能的刺棒/容器接触 <sup>5)</sup>		•			•			•				A			A				
其他非刺棒/容器接触 <sup>5)</sup>			•			•			•			A			A				
接触 <sup>5)</sup>																			
层流罩	•			•			•			A			A			S <sup>6)</sup>			
生物安全柜	•			•			•			A			A			S <sup>6)</sup>			
宿主细胞培养	•			•			•			A			A			S <sup>6)</sup>			
直接加工	• <sup>7)</sup>		• <sup>8)</sup>	• <sup>9)</sup>		• <sup>8)</sup>	• <sup>7)</sup>		• <sup>8)</sup>	A <sup>9)</sup>		A	A <sup>6)</sup>		A <sup>8)</sup>	S <sup>6),9)</sup>		S <sup>7),9)</sup>	
处方		•			•		•			A			A				S		
最终生产	•			•			•			A			A			S <sup>6)</sup>			
设备 <sup>5)</sup>	•			•			•									S <sup>6)</sup>			
设备 <sup>5)</sup>		•			•		•										S		
地板 <sup>5)</sup>	•			•			•									S			
地板 <sup>5)</sup>		•			•		•										S		
地板 <sup>5)</sup>			•			•	•		•									S <sup>10)</sup>	
人员手套 <sup>5)</sup>	•			•			•									S			
人员手套 <sup>11)</sup>		•			•		• <sup>7)</sup>	• <sup>11)</sup>								S		S	
人员隔离 <sup>5)</sup>	•			•			•										S		
人员隔离 <sup>5)</sup>		•			•		• <sup>11)</sup>	• <sup>7)</sup>											S

1) 联邦标准 209e U. S. 惯例。

2) SL。

3) 菌落形成单位。

4) 立方值。

5) U. S. P. (11116)。

6) 包括地板。

7) 其他辅助区。

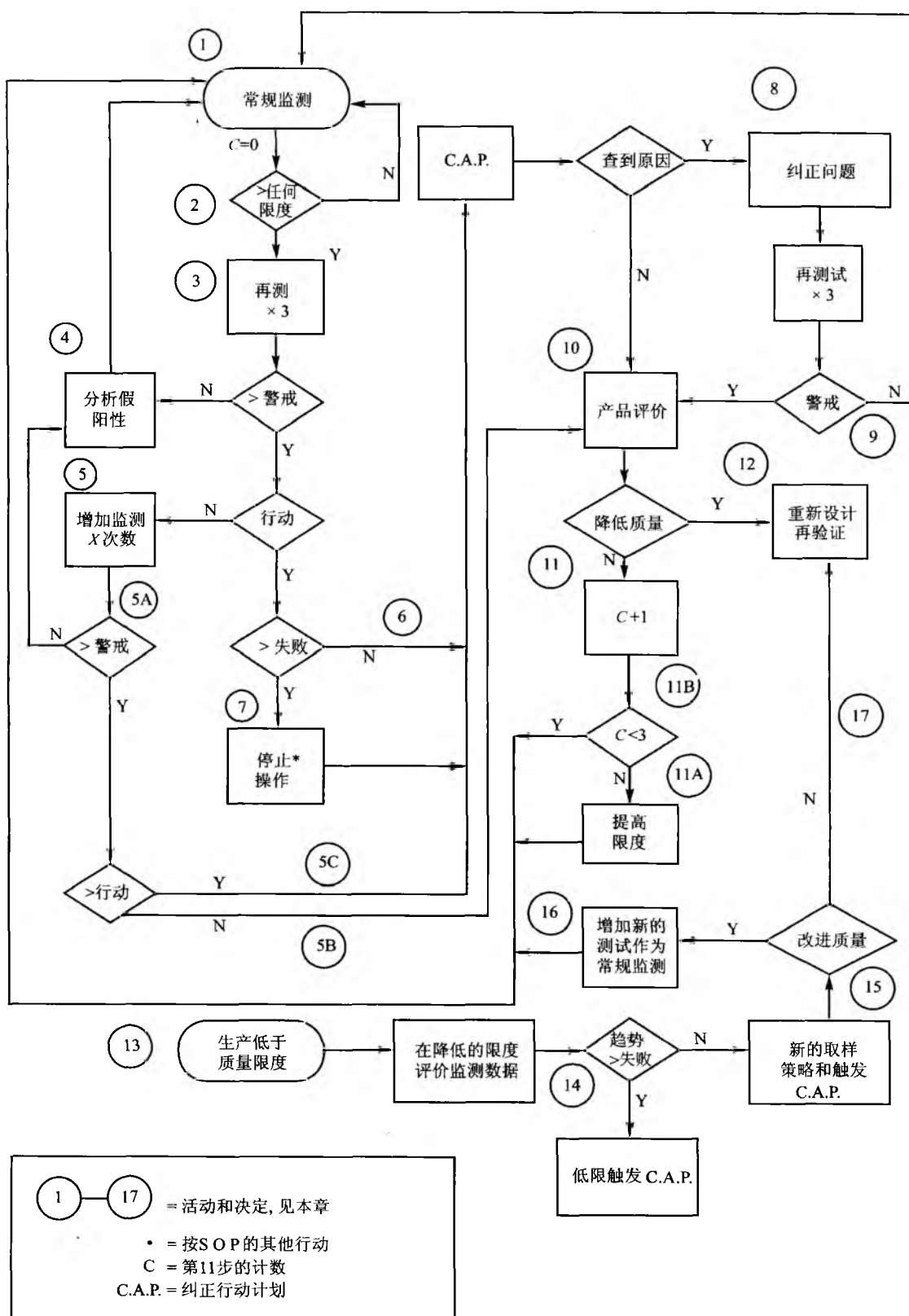
8) 闭合验证系统。

9) 开放系统。

10) 推荐。

11) 直接接近 100 级。

注: A. 大气微生物学; S. 表面。表格经 Des Plaines II 试验室安全公司许可。



证监控人员能遵守操作程序和定期考察技术员的技能, 确认其拥有高超的能力和无暇的技术<sup>[13]</sup>。

## 7. 样品处理

采样、样品运输和样品培养应该在不影响其结果的方式下操作。例如, 琼脂培养皿不恰当地运输, 在盖子上会形成冷凝水并滴到琼脂表面, 使微生物在培养皿的表面和边缘重新分配, 从而导致错误的读数。因此, 琼脂培养皿在保存和运输过程中应该保持倒转和水平的定位。琼脂培养皿应该温和处理, 并在暴露之后尽快转移到细菌培养器中。使用滤网冲击器, 假阳性通常鉴定为落在空穴下琼脂表面由喷射形成的星形痕迹模式之外的菌落形成单位(CFU)。20CFU在统计学上也可通过使用阳性空穴校正表格校正以增加准确度<sup>[15]</sup>。

推荐在培养过程中的多点进行细菌计数。需要使用不同的真菌和细菌计数器, 因为当真菌群落蔓延并掩盖了细菌群落时, 在培养过程中的一个关键点两者倾向于数据合并。由于这个原因, 应该在真菌开始快速生长之前完成细菌的次代培养。在任何可能的时候, 为了提高精确度需要采用有充分逆光和放大功能的光学电子菌落计数器来增强对比和计数。在出现已知的或潜在的高计数时, 应该在较短时间的培养之后, 使用显微镜计数方法来严格区分和计数小菌落。

## 制定监控计划

### 1. 地点选择

所谓关键地点也就是产品暴露在环境之中加入辅料的地点或是操作未受保护产品的地点。对过程流水线的任何介入都会增大污染的可能性(流水线的介入包括原料和产品的引入、除去或处理, 设备的调试和采样活动)。在设计监控计划时应该对这些地点和事件给予特别的关注<sup>[3]</sup>。

对重复预认证过程的录像带进行分析研究, 发现可能产生或隐藏环境污染的行为和条例, 从而提高和完善工作条例以及为PQ验证运行制定正式的过程。录像带可以用来确定指示剂的位置, 这必须包括在监控计划之内, 并在验证过程中加强采样。为了培训和收集信息, 我们应该保存和编辑这些录像带。

对于一些关键的过程, 选择高收集效率、广谱且非破坏性的采样方法是很重要的。为了选择最合适的监控方法和设备, 必须先确定每个关键地点或过程最可能的污染途径。例如, 当接触是最有可能的潜在污染途径时, 出于人

员隔离的原因要选择表面采样技术; 当从受污染的工作面转移是最有可能的污染途径时, 这些工作面的采样就十分重要。在那些没有防护的产品暴露在环境之中的地点, 就需要进行空气微生物监控。必须对单向气流以无活性微粒计数试验的方式进行等轴<sup>①</sup>和等速监控。有些生产步骤要求采用多种采样方法。

邻近关键区域的受控辅助区域是从一般环境过渡到无菌处理核心区的必需接口。这些区域必须维持正压, 使污染物可以从高洁净区域流向较低洁净区域<sup>[10]</sup>, 首先应该检查受控的生产区域、辅助区域、原料储存区域和工作条例以及确定指示剂的位置。受控区域必须按照准则和行业标准维护和监控(表1)。

### 2. 人员、设备和设施

对过程的验证和监控一般分为三个主要方面: 人员、设备和设施。

人的因素是任何过程中最大的潜在变数。不受控制的人员健康和卫生、隔离技术以及无菌技术的变动可能会引起对受控辅助区域和准备阶段的过程原料污染的巨大差异, 同样也会引起无菌工艺核心区以及产品污染的巨大差异。应在PQ执行过程中建立标准化的人员卫生要求、擦洗和制备技术、隔离技术和操作人员技能的适当无菌过程。相关人员应该定期参加书面和实际的培养基填充技能考试<sup>[3]</sup>。

为了符合相关的SOP, 应进行实时监控。对人员隔离措施进行采样, 如手套、鞋套、头套和无菌衣等, 以便发现潜在的由人员引发的“微粒沉降”污染, 来评估隔离技术和无菌技术。这些信息可以用来建立需要的服装更换周期。所有收集到的数据应定期用于设备趋势分析, 必要时调整培训和工作规程。

受控生产或配料过程中使用的所有设备应该以不变的常规操作方式来设计、分层和消毒, 尽可能降低人为的介入。这会降低操作人员带来随机交叉污染的可能性。不恰当消毒或灭菌处理的设备或组件是潜在的污染源<sup>②</sup>。应该对操作设备的代表性表面进行监控和记录。

为了给工程控制提供基线和“括弧”性能以及为了区分在生产环境中所出现的正常背景菌丛, 应该在设备的最初安装验收(IQ)和生产验收(OQ)过程中的原有设计和静止情况下<sup>[7]</sup>进行设备采样。然后, 应该在PQ过程的操作条件<sup>[7]</sup>下进行过程中采样, 以识别过程和人员对产品 and 环境的影响。对所有变化及在整个变化过程中的验证过程进行监控是很重要的。应该依据适用于某一特定生产过程的试验和监控要求(表1), 按照统计模型和坐标方格图标准化场所并做出相应的选择<sup>[16]</sup>。

① 等轴: 空气流进采样探针入口的方向(轴)与采样到的单向空气流方向一致<sup>[7]</sup>。等动力学样品指在等轴采样条件下空气进入探针入口的平均速度和采集到的单向空气流速度是一致的<sup>[7]</sup>。

② 任何设备或辅助材料在引入受控环境之前要进行灭菌, 并且必须对这些灭菌过程进行验证, 灭菌记录和验证结果必须包括在产品批的历史内。仅对灭菌设备进行验证不足以确保无菌。因为灭菌材料的类型以及灭菌器内物品的排列均可以影响结果, 必须制定并验证标准装载物的结构。



表面采样在验证日常管理和消毒程序的有效性方面是非常有用的。它还可以在进入受控环境之前对不合格的原料准备,或对人员技术或防护隔离失误提出警告。空气采样结合工程控制系统试验的完整计划是最有用的<sup>[10]</sup>。推荐的试验如下:

- 设备密封性,应在推荐的间隔时间内进行定期监控<sup>[20]</sup>。
- 高效空气粒子过滤器(HEPA)的过滤速度、空气单向流流速<sup>[21]</sup>均匀度试验以及常规气流的空气流量(以每分钟多少立方英尺来计算),包括对室内设备气流变化的测定<sup>[10]</sup>。
- HEPA 过滤器的泄漏完整性试验<sup>[18]</sup>。
- 非活性微粒洁净度试验<sup>[7]</sup>。
- 烟雾示踪成像以建立直流区域的完整性<sup>[10]</sup>。

有些管理部门要求对 1~4 个测试项目进行定期重复试验。时间间隔由在特定区域的过程和生产的性质决定<sup>[17]</sup>。重复试验第 5 项对评估失败是很有用的,且可以是一种非常有价值的训练工具。伴随的污染微粒计数试验对于鉴别污染指示剂的位置是很有用的。

监控空气层流工作站(LAFW)需要对 HEPA 过滤系统的性能有透彻的理解,即使如此也未必能得到有用的信息。根据联邦标准 209b(附录 A,第 40 和第 50 节)对 LAFW 进行验证,LAFW 在入口平面提供远比 100 级更清洁的空气<sup>[10]</sup>。达到这种洁净水平的实验可以容许微粒污染水平比滤器 OQ 验证试验高两个数量级。更重要的是,使用任何装置在单向流的不连续地点取样不太可能发现滤器的渗漏,因为需要在泄露的准确地点进行等轴和等速采样。因此,在产品的上游放置采样器是不可靠的,也会给无菌带来不必要的威胁。在过程中使用的唯一实用的设备是为了发现邻近产品或在产品下游某些点上由过程引起的微粒数量和微生物污染的变化。该变化可能意味着在人员技术、防护的使用或原料准备的前期集中等方面的失误,或是由 HEPA 滤器被堵住造成,空气流速降低。

### 3. 避免采样引起的假阳性

由于采样需要而介入生产线的次数必须与由生产需要的介入次数持平。采样应该体现最小的污染风险,从理论上来说每次介入生产线的污染风险都是一样的。因为由采样引起的阳性应该不超过总阳性数的 10% ( $10^{-1} N_p$ )<sup>[17]</sup>,采样介入生产线的次数要明显低于生产介入。隔离室或其他隔离的关键过程在生产过程中不能有生产线介入,建议采用小心控制的无菌采样介入,次数不可超过一次。

对由无菌组分所组装的成品,当它们离开生产过程并且仍然处于无菌条件之下时对产品的外表面进行表面采样,与侵入的关键生产地点相比,可能是一种评估微生物污染可能性的更有效方法。这种方法允许对紧挨着产品的关键地点进行采样,以及在相当长的时间间隔内对更多的地点进行非破坏性的采样。此外,这种方法还可以大幅度降低由采样引起的污染概率。

### 4. 监控频率

监控频率应该通过寻找能保持不被检测到的同时超过限度条件的最大可接受时间间隔确定<sup>[19]</sup>,这取决于监控区域内过程的特性。总的来说,最小频率应该和适用的管理规章保持一致(表 1)。建议如果在预定次数的监控周期内没有发现超过限度的现象,可以降低监控的频率。尽管如此,这种做法是不符合基本的监控规程的。监控用来发现过程控制中可能随时发生的故障。即使在相当长的时间内,没有控制部件出现故障,仍需假定最终会发生故障,并且需要在预定的时间间隔内发现。此外,没有超出限度的试验结果,可能是由于监控方案不够灵敏,或者限度设置得太高。

### 对监控计划和限度的评估

微生物监控的大多数讨论建议监控计划和限度的设置应以历史数据为基础,但是几乎都没有提供如何完成这个目标的指南。图 1 提供了评估和修改监控计划和限度的指南。进一步的评估可能由监控中得到的超越限度结果(切入点 1)或在常规监控中没有发现任何超越限度的情况却出现不利产品的试验结果(切入点 2)所引发。

切入点 1:

(1) 实施常规监控。步骤(11)采用计数(C),常规监控计划开始时  $C=0$ 。

(2) 如果结果不超过任何限度,将继续进行常规监控。

(3) 如果结果超过任何限度,重复试验三次以验证结果的准确性。在相同的条件下(即一天内同样的时间、同样的地点和操作员以及同类型的生产)以抽样的形式重测。

(4) 如果三次重复试验的结果没有超过限度,就可以认为原来超过限度的结果是由不可归属的原因(NAC)造成的。确定超过限度计数的原因(即试验文件上记录的不寻常事件、采样和实验室错误等)。应该保存和分析各种阳性 NAC 记录,以确定改进受影响的过程和采样方法。返回到常规监控。

(5) 如果结果超过警戒限度,而没有超过行动限度,应当提高 X 周期的监控频率(X 是由出现超过限度的区域和过程的关键水平所决定,但是应该提供一个足够长的时间间隔来确保发现过程控制不断恶化的情况)。

如果在 X 周期内仍没有超过警戒限度,那么返回步骤(4)。

如果超过警戒限度但是没有超过行动限度,那么实施步骤(10)。

如果超过行动限度,就实施修正行动计划(CAP)<sup>[5]</sup>。

(6) 如果三次重复试验的结果超过行动限度,但是没有超过失控限度,实施 CAP。

(7) 如果三次重复试验的结果超过失控限度,传统的 QA 草案通常要求停产。然而,应该根据监控步骤的特性

## D

以及其他条件采取恰当的行动。替代停产的另一个选择是隔离和保存产品,进行进一步试验以观察有无不利的结果,转向 CAP。

(8) 如果实施 CAP 后可以确定超过限度的原因,那么修改条件,重复试验三次来确定问题是否已得到解决。如果没有发现原因,进行步骤(10)。

(9) 如果实施修改行动后得到的结果在限度之内,返回常规监控。

(10) 如果实施修改行动后得到的结果仍超过限度,或如果没有发现超过限度情况的原因,那么评估对产品是否有不利的影响。

(11) 如果没有发现对产品质量有不利的影响,在计数(C)上加1。这个结果可能表示限度值太低,但是一次事件不足以支持增加限度的决定。

- 如果  $C=3$ , 限度值太敏感,应该加以提高。

- 如果  $C \leq 3$ , 返回常规监控。因为如果在这一点结果超过限度,将会对超过限度结果的原因进行重复调查。在提高限度时要谨慎,在提高限度前应充分确定已经尝试了各种方法来消除引起超过限度试验的任何原因。例如,如果超过限度结果的原因可能是采样失误或实验室错误,在生产设备、过程和工程控制评估中就不能发现原因,这很可能对产品质量没有不利的影响。但是,这种情况不应该被理解为限度太敏感。

(12) 如果产品受到不利的影响,在实施 CAP 后仍未发现原因,应该重新设计和验证监控计划或程序。

切入点 2:

(13) 如果产品质量低于限度,但是监控数据没有发现变化,那么用更低的限度来重新评估监控数据,确定能否发现过程变化。如果数据以图表形式来表示,这应该是相当简单的;增加图表的幅度可能是很有用的。

(14) 如果用较低的限度可以发现变化,那么降低极限和建立 CAP 计划。

(15) 如果降低极限还是不能发现变化,那么评估失败的原因,在出现失败的关键步骤制定新的采样策略。建立 CAP 计划和检验所采取的修正行动在提高产品质量方面是有效的。

(16) 如果产品质量得到提高,那么将新的采样方法加入到常规监控计划。

(17) 如果产品质量没有提高,返回步骤(12)。

## 监控方法、原料和设备的选择

对受控过程的有效微生物监控通常包括过程空气采样用以确定空气微生物污染,以及对设施、设备和操作人员隔离屏障的采样来确定表面污染。必须认真考虑在监控程序中使用的设备和方法的属性和局限性,并要符合采样的目的,以保证使用的方法和技术都是不具破坏性的,有助于设计一个完善的采样计划、技术、数据和数据趋势分析系统。

### 1. 表面采样

表面采样可以在关键操作结束时进行,以尽可能降低对这些生产过程的影响<sup>[8]</sup>,也可以在消毒程序之前<sup>[20]</sup>进行来估计生产过程中累积的污染物负荷<sup>[4]</sup>。此外,消毒前的表面采样有利于发现操作导致的污染和环境及设备表面之间的交叉污染。消毒后的表面采样有利于评估消毒方法,以及取回耐消毒液的隔离菌群用来鉴定和作趋势分析以证明消毒液有效。最常用的两种表面采样方式为药签采样和表面接触采样。

#### 1.1 擦拭采样

擦拭采样通常用于平坦的或不规则的不吸水表面,通过将棉签的基质直接转移到营养肉汤中培养,观察其是否生长。定量培养也是可能的<sup>[5]</sup>。药签方法的主要优点在于能够接触到难以接触的设备表面和生产环境区域。局限性是耗费过多的时间,由于这个程序本身比较复杂会增加偶发污染的可能性,以及不能将计数程序与微生物的完全复原建立联系。

#### 1.2 表面接触皿

表面接触皿通常用于平坦的或不规则的吸水或不吸水的表面采样。表面接触皿是在一个干净的塑料底盘上预置了营养琼脂,以凸面突出并配有一个塑料盖。通过将琼脂按在采样点上来完成采样。

加盖的培养皿予以孵化,并且计数每平方厘米的 CFU<sup>[21]</sup>。表面接触皿的优点是可再生、快速、采样机制简单以及将偶发污染的可能性降到最低;在采集和与微生物复原的关联性方面要优于擦拭采样。

### 2. 空气微生物采样

空气微生物采样是用于关键受控的区域以发现生产过程中出现的空气中活污染物。空气微生物采样的程序、频率和范围应该根据保持产品质量所需要的环境条件来建立,而且需为每一个处理步骤建立<sup>[4]</sup>(表1)。空气微生物采样采用了两种基本方法:

(1) 重力沉降培养皿,是通过在一定时间内在关键受控地点对可能沉降的微生物进行被动测量。

(2) 容量空气采样器,通过对过程空气的机械抽吸和动态培养而对活污染物进行主动测量。

#### 2.1 重力沉降培养皿

重力沉降培养皿测量在一个已知的时间内从空气中沉降已知表面区域的微生物。沉降培养皿可以放置在关键区域的指示剂位置,在这个地点产品可能暴露在空气污染物中,也可放置在受控区域内的空气污染物降落位置。沉降培养皿对监控单向(层流)气流或其他空气净化设备的效率不是一种合适的采样方式。这是根据研究<sup>[22,23]</sup>和通常的假设得出的,即“……污染物的沉降速度(在单向气

流中)是微不足道的”,这意味着重力起着一个次要的作用。假设扩散系数为定值,在直角坐标内速度场的扩散等式为

$$\frac{\partial c}{\partial t} + v_x \frac{\partial c}{\partial x} + v_y \frac{\partial c}{\partial y} + v_z \frac{\partial c}{\partial z} = D \left( \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \right) \quad (1)$$

式中:  $c$  为浓度;  $v_x$ 、 $v_y$  和  $v_z$  分别为在  $x$ 、 $y$  和  $z$  方向的速度;  $D$  为扩散系数。

这提供了描述关于从任意位置的源头散发出来的污染物转移体系的最简单数学模型<sup>[23]</sup>,证明微粒在未受干扰的层流中扩散主要取决于单向流的均匀性和速度。由设备、人员流动和产品引起的单向流扰乱导致湍流,产生暂时的小漩涡和逆流。只有涡流内的湍流扩散才会引起夹带污染物的转移<sup>[23]</sup>。因此,有策略地放置沉降玻璃皿,据报道通过模拟携带微生物微粒(MCP)在产品上沉积能提供一种预测潜在产品污染的合理方法<sup>①[24]</sup>。它们比较廉价,可以用来连续监控整个生产间期,对无菌操作的破坏性小,通常能放置在比容积空气采样器更接近暴露产品的位置。

沉降培养皿不能用于空气中微生物的定量测量,因为不能测定沉淀空气样品的容积。一个打开着的培养皿周围

的空气湍流可能也会影响采集结果。较小的微粒可能根本不沉降<sup>[22]</sup>。此外,延长暴露时间可能会导致营养琼脂变干,导致微生物生长不良<sup>[25]</sup>。

## 2.2 容积空气采样器

作为一种主动的采样方法,容积空气采样器吸出一定量的过程空气,将微生物捕获到琼脂培养基、液体或滤器的里面和上面。培养微生物并以 CFU 估算在抽样环境中每立方英尺(或其他体积单位)空气中微生物的数量<sup>[4]</sup>。容积(主动)空气采样的定量原理可以表示为

$$S(R_i)C = R_i \quad (2)$$

式中:  $S$  为源强度;  $R_i$  为运输速率;  $C$  为校正因子;  $R_i$  为失败率。

容积空气采样由一系列不同的方法完成,包括撞击、通过单个或多个孔的冲击、离心冲击和过滤。每种方法都有其自身的优缺点,这会影响收集到的与特殊应用相关的数据值。表 2 根据相对成本、使用难度、适当的用途及其他因素对流行的采样器进行了比较。

表 2 相关成本/困难比较

采样方法/采样器	获得成本 <sup>1)</sup>	使用/采样成本 1~6 <sup>2)</sup>	使用方便 1~6 <sup>2)</sup>	采样速度 1~6 <sup>2)</sup>	移动性 1~6 <sup>2)</sup>	污染样品的可能性	污染环境的可能性	重现性 1~6 <sup>2)</sup>	应用 A~C	隔离器 1~6 <sup>2)</sup>
典型的擦拭采样	•	5	2	2	2	4	1	2	C	4
典型的接触皿	•	2	1	1	1	1	1	1	B	1
典型的重力沉降培养皿	•	1	1	1	1	1	1	3	A	1
SAS Super 90 空气采样器	5	2	2	2	2	2	2	2	A	3
STA New Brunswick	5	1	3	2	4	2	3	2	A	1 <sup>3)</sup>
Andersen 1-STAGE 滤网冲击器	2	1	3	2	2	2	3	1	A	3
RCS Plus 离心生物试验	3	3	3	2	2	4	2	3	A	6
Anderson 6-STAGE 滤网冲击器	5	4	6	6	3	4	3	2	A	5
Sartorius MD8 凝胶薄膜	4	6	2	1	1	2	2	1	A	1 <sup>3)</sup>
SMA P200 冲击器	6	1	2	2	2	2	3	2	A	4
所有玻璃撞击器	6	2	4	3	4	4	3	2	A	4

① 不管空气微生物采样器在层流操作区如何放置,最好测量下游区某些点产品对过程的影响。例如,烧瓶口可能位于 HEPA 滤器流出的“初气流”中,而撞击到紧邻培养皿表面的气流将会受到烧瓶引起的气流扰乱。只有培养基填充过程模拟试验才能实现这个功能。但是,对关键通气孔的即时下游进行空气微生物采样,会发现关键过程空气的总清洁级下降,这意味着增大了成品邻近区域受污染的可能性。

续表

采样方法/采样器	层流 1~6 <sup>2)</sup>	临界环境	生产区 1~6 <sup>2)</sup>	普通区 1~6 <sup>2)</sup>	平坦环境表面	不规则环境表面	人员隔离 1~6 <sup>2)</sup>	容积 (SP) 是/否 (Y/N)	可能的远程探针	外接电源	采样
典型的擦拭采样	4	2	2	1	2	1	4	N	•	•	S
典型的接触皿	1	1	1	1	1	4	1	N	•	•	S
典型的重力沉降培养皿	1	1	1	1	•	•	•	N	•	•	S
SAS Super 90 空气采样器	2	3	2	2	•	•	•	Y	N	Y	S
STA New Brunswick	1 <sup>4)</sup>	3	1	2	•	•	•	Y	Y	Y	S
Andersen 1-STAGE 滤网冲击器	2	2	1	1	•	•	•	Y	N	Y	S
RCS Plus 离心生物试验	5	5	3	1	•	•	•	N	N	N	P
Anderson 6-STAGE 滤网冲击器	5	2	2	2	•	•	•	Y	N	Y	S
Sartorius MD8 凝胶薄膜	1 <sup>4)</sup>	1	1	1	•	•	•	Y	Y	Y	P
SMA P200 冲击器	3	3	2	1	•	•	•	Y	N	Y	S
所有玻璃冲击器	4	3	2	2	•	•	•	Y	N	Y	S

1) 1000 美元内的获得成本。

2) 难易程度: 1~6 (从最简单到最困难)。

3) 与软管/探针连接。

4) 与软管/等动力探针连接。

注: A. 大气生物学样品; B. 平坦表面采样; C. 不规则表面采样。P. 专属培养基体系; S. 标准商用体系。本表格经 Northview Biosciences 公司许可, Northbrook, IL。

**撞击:** 在撞击采样器内, 抽吸一定量的空气通过玻璃容器中的液体<sup>[20,30]</sup>。通过撞击在烧瓶底部将微粒和气流分离, 当空气继续从泵系统流出时, 微粒被液体阻挡和保留。撞击器的高速气流能有效地打碎细菌/微粒凝聚物, 以便于微生物计数。这过程能更加准确地反映微生物的真实数目, 所以我们推荐撞击器作为对大气微生物污染监控的标准参考方法<sup>[26,28]</sup>。然而, 撞击器由于在较长的采样过程中搅动和蒸发引起的损失, 需要添加消泡剂和更换液体。

这些额外步骤增大了偶发污染的可能性。有证据显示撞击器的采样效率取决于系统设计和采样的微粒尺寸<sup>[29]</sup>。要取得精确和可重复的结果是相当困难的, 因为小于 5.0 μm 的微粒可能会透过试验的撞击器<sup>[30]</sup>。

**冲击:** 在狭缝-琼脂撞击采样器 (STA) 或滤网冲击器中, 抽吸一定量的空气通过单一出口 (STA) 或者多个出口 (滤网), 而活微粒由于惰性被入口层流挤压出来, 在层流突然改变方向绕过目标层时, 冲击到垂直放置的目标培养琼脂上。在离心冲击采样器中, 由“旋冲”空气以足够的速度通过叶轮机时产生强大的离心力, 引起微生物从样品空气层流中分离出来, 冲击到放置在采样器内缘与入口

气流轴平行的营养琼脂培养基条带上。

滤网冲击器可以是单层或多层设计。多层设计使大气微生物污染的计数和测量更加容易。当样品空气通过仪器时, 每层的样品速度都会增加, 导致更小直径和更低密度微生物的梯度沉淀和精确测量。由滤网采样器吸入的微生物通过多重入口的基质从每个垂直叠放层的单个琼脂培养皿上直接冲击到琼脂培养基上进行培养, 不需要进一步的再次培养步骤来计数。滤网采样器的优点是微粒沉淀率高、可以测量微粒的大小、可以随时改变采样时间和采样容积, 以及与其他大气微生物试验方法相比具有更高的收集效率。据报道, 单层和六层结构是三种采样方法中可选的两种<sup>[27]</sup>。

在隔离器和关键过程区域中使用 STA 采样器时, 应该通过使用无菌采样软管和探针来完成采样, 这样可以方便采样器在非关键区域的远程定位。在监控单向滑流时, 这种软管/探针结构应该既应等轴定向且等速, 保证尽可能降低滑流的干扰。STA 的优点包括可以以各种速度旋转培养皿, 样品可以直接反映大气微生物浓度的经时变化以及可用单个培养皿采集多个样品<sup>[31]</sup>。历史上, STA 采样器被作



为参照标准评价其他的空气采样器<sup>[17,32]</sup>。琼脂培养皿可以很容易地从采样器上移除，拿去培养，以每单位抽样空气的 CFU 值来计数污染物。

STA 的缺点是不适合在高浓度的微生物条件下<sup>[33]</sup>使用，且使用起来比较麻烦<sup>[17]</sup>。此外，已经通过 STA 裂缝的样品空气与周围空气相比，尺寸在 0.5~0.8 $\mu\text{m}$  的微粒比例较高，尺寸在 3.0~25.0 $\mu\text{m}$  的微粒比例较<sup>①</sup><sup>[34]</sup>。这是由于通过 STA 的狭缝后大微粒会分裂。

由于长时间采样后琼脂出现脱水<sup>[40]</sup>，对超过 30min 的连续采样，不推荐使用冲击采样器。滤网采样器会出现一些损失区域<sup>[40]</sup>，包括入口处损失（在样品入口点侧风的影响）、层间损失（颗粒在内表面而不是在冲击琼脂表面沉积），以及微粒的再次夹带（由于冲击琼脂的脱水作用造成微粒“跳动”，微粒被重新带入气流）。

离心采样器的优点是具有在短时间内采集大量空气（40L/min）的能力。它运转安静、质量轻、设备成套以及运行使用不需要空气泵或外接电源。离心采样器可以很好地指示环境隔离菌群<sup>[17]</sup>。

离心采样不能进行等速测试<sup>[23]</sup>，并且结果的精确度取决于采样微粒的尺寸。既然不能对采样空气中的微粒尺寸进行常规测定，离心采样器作为一种定量装置的可靠性受到了质疑<sup>[36]</sup>，尤其对小微粒的定量<sup>[27,37]</sup>。另外一个最近的研究表明离心采样会造成空气以湍流混合的方式移动，严重干扰采样器周围的气流模式，从而将干扰传递给任何被采样的单向气流模式<sup>[23]</sup>。采样空气的再次抽吸对于早期的设计也是一个问题，会造成对进入和出去气流的识别困难，而这是定量微生物所必需的<sup>[38]</sup>。专用的琼脂培养基是专门为这个系统设计的，在以无菌的方式放置和移除时都需要精细的技术。

**膜过滤：**膜过滤（MF）采样是空气中微生物污染物在通过纤维素膜滤器（CMF）或明胶膜滤器（GMF）时被捕获而实现的。膜过滤的微粒清除机制分别为惯性撞击、扩散阻留和直接阻留。采集后，在无菌条件下将 GMF 平铺在倒有琼脂的培养皿上，使得微生物直接在营养培养基上生长。将滤膜溶解在无菌溶液中也是可行的<sup>[31]</sup>。

MF 采样被证明是保留空气微生物污染物最有效的方法，而 CMF 采样在测试如黏质沙雷氏菌<sup>[39]</sup>和埃希氏菌属<sup>[27]</sup>等压力敏感的微生物时，由于 CMF 表面的脱水作用，其复原率会比撞击取样器低。研究表明明胶海绵滤器和 GFM 一起使用时，在同样采样时间内的复原率明显比 CMF 高<sup>[40,41]</sup>。最近对采样系统的比较研究表明 GMF 和 STA 采样器一样有效，不管微粒的尺寸如何，在收集尺寸小于 5.0 $\mu\text{m}$  的微生物时比离心采样更加有效<sup>[31]</sup>。最近的一个研究利用可见示踪物将 GMF 与离心、滤网和 STA 系统采集单向气流滑流的状况进行了比较，显示 GMF 采样器是唯一能够在气流层流模式下不会造成可见干扰的等轴和等速采样方法<sup>[31]</sup>。但是在这个研究中，STA 试验是在没有放

置远程软管-等速探针设备的情况下进行的。

GMF 的局限性表现在需要额外的无菌再次培养步骤，这将增大偶发污染的可能性，以及需要专用的膜过滤器。这造成每个样品的成本比单层滤网、SAS、STA、SMA 和玻璃撞击系统高 12 倍，比离心采样器高 4 倍。

3. 生长培养基

微生物监控使用的采集和生长培养基应依照目标微生物、采样的区域和表面以及保留在采样表面的抑制性残留物进行选择。表 3 中列出了环境监测常用的培养基。在特定情况下（如当产品复原了专性厌氧微生物时），应该由有资格的微生物学家来选择额外的特定培养基和方法<sup>[17]</sup>。

表 3 环境监测常用的培养基

培养基	选择菌	采样
胰蛋白胨大豆琼脂 (TSA) <sup>1),2)</sup>	需氧菌和兼性厌氧菌	空气和表面
Lethen 琼脂 <sup>3)</sup>	需氧菌和兼性厌氧菌	表面
DE 中和琼脂 <sup>4)</sup>	需氧菌和兼性厌氧菌	表面
萨布罗右旋糖琼脂	酵母和霉菌	空气和表面
玫瑰红琼脂	酵母和霉菌	空气和表面
缓冲液 <sup>5)</sup>		表面

- 1) 胰蛋白胨大豆琼脂，也称为大豆酪蛋白水解液琼脂。
- 2) 用于培养细菌和（或）真菌的通用未改良培养基。
- 3) 包含用于中和如次氯酸钠（漂白）等卤素类消毒剂残留物的添加剂。
- 4) 包含用于中和卤素和氯化铵类消毒剂残留物的添加剂。
- 5) 使用无菌药签和缓冲液采集的样品必须转移到培养基中进行培养和计数。

注：经 Northview Biosciences 公司许可，Northbrook, IL.。

4. 空气微生物采样器的比较

由于空气微生物采样器的不同特性和操作原理，没有直接和简单的比较方法。使用者在为某种特定应用选择采样器时应仔细评估每种方法的优缺点<sup>[42]</sup>（表 2）。以下两个比较空气微生物采样系统的研究能提供有用的信息：

Jensen 等<sup>[27]</sup>在 1992 年对八种微生物气溶胶采样器做了比较研究，结果表明 Andersen 6-STG、I-STC 和 ACE GLASS AGI30 采样器在受控制的研究条件下可以用于恢复游离细菌的气溶胶（即大多数为大肠杆菌和 *B. subtilis* 的单个细胞， $d_{ae} \geq 2\mu\text{m}$ ）<sup>[43]</sup>。Ljungqvist 和 Reinmüller 于 1998 年<sup>[44]</sup>在受控环境中做了另七种采样器的比较研究。结果表明受试的撞击采样器差异极大。有限数量的平行试验可以

① 有意思的是，据报道研究者认为该属性是所有玻璃撞击器的优点<sup>[31,32]</sup>。

避免出于统计学考虑对相当的收集效率进行评估。该研究最引人注目的建议是“测试结果应被视为一种（污染）水平的标志，而不是被视为准确的绝对值”，使用哪种空气微生物采样器应该根据不同的位置和环境使用不同类型的采样器来仔细选择。此外，这个研究推荐同时使用不连续微粒计数器（DPC）来测量采样区空气中微粒的总数<sup>①</sup>。

## 分析和解读监控结果

有效解读环境微生物监控数据是监控过程中最困难的方面。几个因素使这个过程更加复杂，包括大多数微生物污染事件固有的非随机分布、样品处理失误、一个监控事件和下一个监控事件之间采样技术的变化和在一般的环境中可能表现出的污染物类型及污染水平的季节性变化。

对样品数据进行统计评估的目的是从个别事件（如30min处理时间）推测整个事件（如8h的变化）。因为微生物监控数据通常用来评估人类活动的影响，这种影响在一个事件和另一个事件之间是无法准确复制的，结果并不符合呈正态分布的标准统计模型。尽管有局限，我们仍有必要总结这些结果，并和限度值做比较。最好的统计评估方法由数据的性质决定<sup>[14]</sup>。Wilson 提出微生物监控数据的直方图通常比较类似泊松分布或负幂分布<sup>[14]</sup>，而 Akers 则指出泊松分布只适合于那些人类干预极少的系统<sup>[12]</sup>。

泊松分布<sup>[45]</sup>的公式如下：

$$P(C) = \frac{(np_0)^C}{C!} e^{-np_0} \quad (3)$$

式中：C 为单个采样计数； $np_0$  为平均计数； $e=2.718281$ 。

对个别采样点的结果趋势分析可能比数据汇总的统计分析更为有用，因为每个采样点可能反映一种独特的情况。数据的非传统编组也可能是有价值的。例如，将有特殊活动的地点编组并在样品收集表格上注明，将在一定时间内收集的所有数据编组（如在午饭刚过后或接近生产周期结束时），或将每个操作员的数据编组，这样可以揭示特定的问题区。

由 Besterfield 提供的控制图范例（图2）说明了四种主要的失控模式<sup>[45]</sup>。第5种模式通常是由一些孤立的失控点引起的。这些同样适用于生产和采样操作。所有的模型都可以从范围（R）图和标准（或参考）过程平均图（但图表更为常见）观察。

可以发现造成每种失控模式的可能原因，并应通过原因和结果分析（C&E）<sup>[45]</sup>，列出适用于特定过程造成失控的原因清单。这些模式的可能原因如下：

（1）由没有经验的操作员、原材料的变化或是设备失灵引起的模式变化或跳跃；

（2）由生产环境的逐步变化、设备性能的逐渐变化（如 HEPA 过滤器的装载等），或对 SOPs 观察出现逐渐松懈等原因引起水平的趋势性或稳定变化；

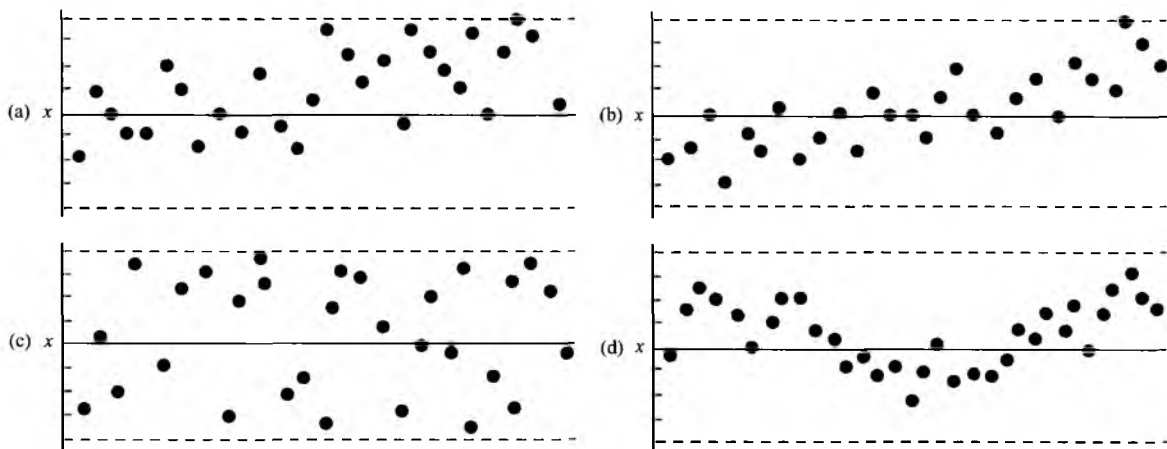


图2 失控模式识别。(a) 水平的变化或跳跃；(b) 水平的趋势或稳态变化；(c) 两个总体；(d) 复发循环（图表经 Prentice Hall 有限公司许可，Upper Saddle River, NJ.）

① 由于不可能从微生物试验中获得即时结果，作者赞成在可能的情况下将这些数据同 DPC 建立关联作为即时数据的来源，以发展有用的历史数据。虽然“……还未在空气中微粒的总浓度和空气中活性微粒的浓度之间建立普遍的联系……”<sup>[7]</sup>，但在受控操作条件下特定区域或设备（Ljungqvist 和 Reinmüller 已在两个设备中确认）内这种联系是有可能的，接近  $10^{-4}$ （10 000 : 1）。这种联系有助于“活力指数”作为一种关联即时微粒计数值变化与空气微生物污染物相应变化的合理方式。这种技术对于即时辨别污染指示剂的位置很有用。在几年三种骨髓移植复合物的有规则定期大气生物学取样过程中，“实验室安全公司”已根据特定场所建立了类似的相关性。在所有情况下，将空气微生物污染物的总数与即时 DPC 数据的关联（称作“活力指数”）用于查找免疫妥协患者群体中危及生命的微生物 *A. niger* 的分布和存在。虽然发现在这些高度受控设备中（如 1000 级或更高）的关联要比 Ljungqvist 和 Reinmüller<sup>[42,44]</sup> 描述的高出一或两个数量级，但是这种关联是一致的，通过使用即时 DPC 数据作为空气微生物污染物指示剂允许设备管理者可靠地发现可能的危及患者生命的环境恶化。分析数据显示随着设备清洁级的增加，空气微生物污染物能与非活性污染物成比例增加。这很可能是由于当消除了普通的环境污染物时，人类活动便成了主要的污染物来源。

(3) 产生两个总体可能是由于在同一图表上有多于一条的生产线或多于一台的关键设备, 在同一图表上有多于一个的操作员或不同的采样员或采样技术;

(4) 重复出现的周期可能是由定期的人员轮换、操作者疲劳和复原周期、消毒清洗周期和季节性变动造成的。

如果采样时间间隙正好和循环频率保持一致, 在这种情况下只能发现低或高范围的周期, 可能会错过重复出现的周期。R 图中超限趋势接近低限值代表性能优良, 应分析维持这些过程水平的方法<sup>[45]</sup>。不论采用何种统计方法来总结数据, 用如直方图和程序控制图等图表表示, 对在试验结果中发现趋势或周期模型是极其有用的。

有两种超限结果: 随机结果归因于偶然发生(不能归属)的原因, 而非随机结果可归因于可归属的原因。对于受控过程和设备, 目标是区分个别数据点是由可归属或偶然原因引起的。如果个别超限事件在随后多次的重复试验中不再发生, 那么它就是偶然原因引起的, 并不表现出恶化的趋势。所有的统计评估方法都包括“抛弃”虚假数据的机制。但是, 任何一个偶然的的结果都会有一个原因, 应该努力去发现并解释它。所有的数据都是有意义的, 可能对改善过程或试验程序很有用。

### 物种形成

当产品试验结果发现出现特定的微生物时, 当评价消毒化合物和消毒程序的有效性时, 以及当监控结果引发修改行动计划时, 就意味着有微生物的物种形成。一个合格的微生物学家应熟悉采样设备、所采用的采样方法和在清洁室经常发现的微生物的起源, 能够分析物种形成<sup>[17,46]</sup>。应该定期分析物种形成来辨认当过程在限度内操作时正常复原的隔离菌群。物种形成对鉴别任何超过限度情况的原因是有用的。在修正行动计划的初始阶段, 应对所有经鉴定的微生物进行可能的污染源和污染途径分析<sup>[17]</sup>。从物种形成分析得到的信息可能立即显示出最可能的来源。这些信息也能指示不太常见的来源, 如反常的清洁液等。

应该对监控计划实行定期重新评估, 在趋势分析中要考虑季节性因素。许多采样方法不能以相同的效率收集所有的微生物。微生物可能出现季节性的变化。任何季节性变化(起伏)都应该对应用优势微生物的物种形成和采样器校正因子进行调查。

## 纠正行动计划

CAP 应该清楚地规定并以文件的形式记录:

- (1) 数据分析方法;
- (2) 警戒、行动和失控限度;
- (3) 发现恶化趋势或超限的情况时采取的修正行动;
- (4) 确定修正行动有效性的方法。

当证实出现超过行动或失控限度的趋势时, 应该立即着手实施 CAP。由于人类活动是过程控制失效最可能的原因, 调查程序通常从人员开始, 然后按可能性从大到小的

顺序对不同的原因进行调查。这种普通调查计划的一个例外情况是验证房间的密封性。它是工程控制设备有效性的基本指标。尽管对密封性进行常规监控应该检测任何超限结果, 但是由于验证适当密封 (pressurization) 非常简便, 建议将其作为 CAP 的第一步。

总的来说, 引起任何过程或环境控制恶化的原因是以下三种主要体系中的一种: ①人员控制; ②过程控制; ③设备(工程)控制。空气中检测到的微生物污染水平增加可能是由几种情况中的任何一种造成的, 对数据进行一套简单的逻辑质疑决定最可能原因。

疑问 1, 污染水平增加是真实并可以重现的吗? 如果不能重现, 可能是由于采样失败或 NAC。如果可以重现, 可能是由于实际污染水平的增加, 或由方法、原料或季节性或污染物种类的变化(不同的微生物有不同的采样效率)而引起的收集效率的提高。疑问 2, 如果增加是真实的, 是由于污染源强度的增加, 还是由于维持清洁空气供应的工程控制能力的下降? 区分这两种可能性最简单的方式是检查微粒计数数据。试验结果有几种可能的污染物, 每种指示空气中污染物增加的一种不同原因: ①在操作条件下获得的微粒计数没有上升, 但是空气中微生物污染增加, 这最可能是由于人员培训和(或)防护衣程序的不合适引起的; ②如果操作时的微粒计数上升, 但是静止时的微粒计数没有上升, 那么人员活动可能是微生物污染上升的原因, 这代表污染源强度的增大(当消除人类活动后, 工程控制能够创造出和在 OQ 验证阶段所表现的同样条件); ③如果静止状态的微粒计数上升, 可能是由于工程控制效率的下降。

与上述类似的逻辑推断可以应用于表面污染水平增强的情况, 这可能是由于污染源强度的增大, 或隔离控制或清洁和消毒程序效率的下降所致。流程图解释了数据的逻辑评估程序, 对将超限结果调查作为制定修正行动计划的起点是很有用的。

### 参考文献

1. Code of Federal Regulation. The Current Good Manufacturing Practices; Title 21, Part 211, U. S. Government Printing Office; Washington, DC, 1992.
2. ASHP Technical Assistance Bulletin. Quality Assurance for Pharmacy-Prepared Sterile Products. AJHP 1993, 50, 2386-2398.
3. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Sterile Drug Products for home use. USP 1998, 23, 1963-1975, (1206) .
4. Roscioli, N. Environmental Monitoring Considerations for Biological Manufacturing. BioPharm 1996, 9 (8), 32-38.
5. Peters, G. F.; McKeon, M. R. Microbiologic Monitoring of Aseptic and Controlled Processes. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J.

- C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 2000, 19, 239—278.
6. Center for Drugs and Biologics and Office of Regulatory Affairs. Guideline on Sterile Drug Products produced by Aseptic Processing; FDA; Rockville, MD, 1987.
7. Institute of Environmental Science and Technology. In Airborne Particulate Cleanliness Classes in Cleanrooms and Clean Zones; Federal Standard U.S. Govt. Printing Office; Washington, DC, 1992.
8. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Microbial Evaluation of Clean Room and other Controlled Environments. USP 1998, 23, 4426—4433, <1116>.
9. National Aeronautics and Space Administration. In NASA Standards for Clean Rooms and Work Stations for the Microbially Controlled Environment; Publication NHB 5340.2; NASA; Washington, DC, 1967.
10. Peters, G. Laminar Airflow Equipment; Engineering Control of Aseptic Processing. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J.C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1993; 8, 317—359.
11. Satter, S. Biological and Physical Monitoring of a Controlled Environment. J. Am. Contam. Contr. 1998, 1 (8), 27—31.
12. Akers, J.; Agalloco, J. Sterility and Sterility Assurance. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1997, 51 (2), 72—77.
13. F.D.C. Reports, Inc. Quality Control Reports, The Gold Sheet September, 1998; 15—19.
14. Wilson, J. Setting Alert/Action Limits for Environmental Monitoring Programs. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1997, 51 (4), 161—162.
15. Andersen Samplers, Inc.; Ed.; Operating Manual TR # 76—900042; Andersen Samplers, Inc. Atlanta, 1980; 23.
16. Parenteral Drug Association, Inc. Fundamentals of a Microbiological Monitoring Program. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1990, 44 (S1), S3—S14.
17. BSL Guide to Operational Procedures and Disciplines Applicable to Clean Rooms and Clean Air Devices; Part 1, British Standard 5295; London, 1989.
18. General Services Administration. In Clean Room and Work Station Requirements, Controlled Environments; Federal Standard 209b, U.S. Govt. Printing Office; Washington, DC, 1976.
19. Sanford, R. Cumulative Sum Control Charts for Admixture Quality Control. Am. J. Hosp. Pharm. 1980, 37, 655—659.
20. Akers, J. Environmental Monitoring and Control; Proposed Standards, Current Practices, and Future Directions. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1997, 51 (1), 36—47.
21. Niskanen, A.; Pohja, M. S. Comparative Studies on the Sampling and Investigation of Microbial Contamination of Surfaces by the Contact Plate and Swab Method. J. Appl. Bact. 1977, 42, 53—63.
22. Sayer, W. J.; MacKnight, N. M.; Wilson, H. W. Hospital Airborne Bacteria as estimated by the Andersen Sampler Versus the Gravity Settling Plate. Am. J. Clin. Path. 1972, 58, 558—562.
23. Ljungqvist, B.; Reinmüller, B. Interaction between Air Movements and the Dispersion of Contaminants; Clean Zones with unidirectional Air Flow. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1993, 47 (2), 60—69.
24. Whyte, W. Support of Settle Plates. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 50 (4), 201—204.
25. Kingston, D. Selective Media in Air Sampling; A Review. J. Appl. Bact. 1971, 34 (1), 221—232.
26. Hering, S. V. Inertial and Gravitational Collectors. Air Sampling Instruments for Evaluation of Atmospheric Contaminants, 7th Ed.; Hering, S. V., Ed.; American Conference of Government Industrial Hygienists, Inc.; Cincinnati, 1989; 385.
27. Jensen, P. A.; Todd, W. F.; Davis, G. N.; Scarpino, P. V. Evaluation of Eight Bioaerosol Samplers Challenged with Aerosols of Free Bacteria. J. Am. Ind. Hyg. Assoc. 1992, 53 (10), 557—660.
28. Brachman, P. S. Standard Sampler for Assay of Airborne Microorganisms. Science 1964, 144, 1295.
29. Macher, J. M.; First, M. W. Personal Air Samplers for Measuring Occupational Exposures to Biological Hazards. J. Am. Ind. Hyg. Assoc. 1984, 45 (2), 76—83.
30. Lyons, C. Sampling Efficiencies of all-glass Midget Impingers. J. Aerosol Sci. 1992, 23 (S1), S599—S602.
31. Pickard, D. R.; Pendlebury, D. E. Examining Ways to Capture Airborne Microorganisms. Clean Rooms 1997, 11 (6), 34—40.
32. Benbough, J. E.; Bennett, A. M.; Parks, S. R. Determination of the Collection Efficiency of a Microbial Air Sampler. J. Appl. Bacteri. 1993, 74, 170—173.
33. Decker, H. M.; Wilson, M. E. A Slit Sampler for Collecting Airborne Microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 1954, 2, 267—269.
34. Fields, N.; Oxbarrow, G.; Puleo, J. R.; Herring, G. Evaluation of Membrane Filter Field Monitors for Microbiological Air Sampling. Appl. Environ. Microbiol. 1974, 27 (3), 17—520.
35. Marple, V. A.; Willeke, K. Impactor Design. Atmos.



- Environ. 1976, 10, 891—896.
36. Kaye, S. Efficiency of Biotest Rcs as a Sampler of Airborne Bacteria. PDA J. Parenter. Sci. Technol. 1988, 42 (5), 147—152.
  37. Trudeau, W. L.; Fernandez-Caldas, E. Identifying and Measuring Indoor Biologic Agents. J. Clin. Immunol. 1994, 94 (2;2), 393—400.
  38. Macher, J. M.; First, M. W. Reuter Centrifugal Air Sampler; Measurement of Effective Air-Flow Rate and Collection Efficiency. Appl. Environ. Microbiol. 1983, 45, 1960—1962.
  39. Goetz, A. Application of the Molecular Filter Membrane to the Analysis of Aerosols. Am. J. Publ. Health. 1953, 43, 150—159.
  40. Noller, E.; Spendlove, J. D. An Appraisal of the Gelatin Foam Filter as a Sampler for Bacterial Aerosols. Appl. Environ. Microbiol. 1956, 4, 300—306.
  41. Mitchell, R. B.; Fulton, J. D.; Ellingson, H. V. A Soluble Gelatin Foam Filter for Airborne Microorganisms at Surface Levels. Am. J. Publ. Health 1954, 44, 1334—1339.
  42. Ljungqvist, B.; Reinmüller, B. Active Sampling of Airborne Viable Particles in Controlled Environments: A Comparative Study of Common Instruments. Eur. J. Parenter. Sci. 1998, 3 (3), 59—62.
  43. CMF Only. GMF was not included in this study.
  44. Ljungqvist, B.; Reinmüller, B. Hazard Analyses of Airborne Contamination in Clean Rooms: Application of a Method for Limitation of Risks. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1995, 49, 239—243.
  45. Besterfield, D. Quality Control; Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, 1998.
  46. Hyde, W. Origin of Bacteria in the Clean Room and their Growth Requirements. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1988, 52 (4), 154—159.

(鲍 英 译)

## D

## 多肽和蛋白质的非侵入性给药

Patrick J. Sinko

Gerald Scucci

Rutgers University, Piscataway, New Jersey, U. S. A.

Yong-Hee Lee

Trega Biosciences, Inc., San Diego, California, U. S. A.

## 引言

近些年来,随着重组 DNA 和现代合成技术方面取得的巨大进展,蛋白质类药物的大量低成本生产成为现实,多肽和蛋白质类药物在多种疾病的治疗中得到越来越多的应用。在过去的几十年里,主要努力在于开发蛋白质类药物的非注射(非侵入性)途径给药。然而生物利用度低限制了非侵入性给药的成功<sup>[1~5]</sup>。造成生物利用度低的主要原

因是由于蛋白质不利的物理化学性质(如相对分子质量大、荷电、亲水性以及理化不稳定等)和生物局限性,如膜渗透性差和体循环前酶代谢。因而通过非侵入性途径给药通常需要特殊的给药系统、吸收促进剂和(或)蛋白水解酶抑制剂来改善生物利用度。研究用于蛋白质类药物的非侵入性给药途径主要有口服给药、黏膜给药、肺部给药和经皮给药<sup>[6,7]</sup>。目前,几乎所有治疗用蛋白都通过静脉注射(iv)、皮下注射(sc)或者肌肉注射(im)给药。表1列举了一些蛋白质类药物在临床上的应用。

表1 治疗用多肽药物及其用途

治疗剂	分子质量/Da	适应证	给药途径
阿糖苷酶	59 300	Gaucher 病	iv
$\alpha_1$ -抗胰蛋白酶	52 000	先天性 $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶缺乏	iv
降钙素	4500	Paget 病, 绝经后骨质疏松, 高钙血症	im、sc、鼻内
环孢霉素 A	1200	异体器官移植排斥	口服、iv
去氨加压素	1183	原发性夜间遗尿症	鼻内、sc、iv
DNA 酶	37 000	血友病 A 和 von Willebrand 病	吸入
红细胞生成素	30 400	贫血	sc、iv
依那西普	150 000	关节炎	sc
第 IX 因子	55 000	血友病 B	iv
非格司亭	1800	严重慢性中性粒细胞减少症	sc
醋酸格拉默	平均 4700~11 000	多发性硬化症	sc
伊米苷酶	60 430	Gaucher 病	sc、iv
胰岛素	可变, 最小 6000	糖尿病	sc、iv
复合 $\alpha$ -干扰素	19 434	丙型肝炎	sc
$\alpha$ -干扰素	19 271	毛细胞性白血病	im、sc
$\beta$ -干扰素	22 500	多发性硬化症	sc
$\gamma$ -干扰素	16 000~25 000	减少与慢性肉芽肿病相关的感染发病频率	sc
缩宫素	1007.2	促产	iv
阿地白介素	15 300	癌	iv
瑞替普酶	39 571	急性心肌梗死的处置	iv
沙格司亭	可变 19 500、16 800 和 15 500	骨髓重建	sc、iv
人重组生长素	22 000	生长激素	sc、im
链激酶	47 000	溶纤维蛋白药	iv
$\alpha_1$ -胸腺素	3108	慢性肝炎	sc
组织纤维蛋白溶酶原激活剂	70 000	溶解纤维蛋白	iv

在多肽和蛋白质类药物的非侵入性给药方面,唯一成绩显著的是一些小分子肽类药物类似物的口服给药,如青霉素、头孢菌素、血管紧张素酶抑制剂和肾素抑制剂等<sup>[8,9]</sup>。小分子肽类药物的肠吸收途径与大分子肽类和蛋白质的吸收有很大的差异。小分子肽类药物通过人的肠肽转运体(hPepT1和hPT1)吸收,即载体介导吸收<sup>[8-10]</sup>;而多于三个氨基酸残基的肽类物质尽管吸收机制尚不明确,却不是通过这种典型的肽类载体介导的转运吸收。本章的重点在于大分子多肽和蛋白质药物的非侵入性给药。蛋白质的非侵入性给药已经取得了一些成功,尤其是在鼻腔给药方面。本章列举了一些蛋白质非侵入性全身给药的例子。本章还以小分子蛋白质药物——鲑鱼降钙素(sCT)为模型,重点讨论了口服给药的策略。

## 非侵入性途径

### 1. 口服给药

消化道黏膜表面具有很大的表面积,由单层上皮细胞覆盖,这些单层上皮细胞紧密连接形成了吸收的有效屏障。口服给药比较方便、患者的顺应性强,因而该领域的研究很多。一些蛋白质药物有惊人的易吸收特性,例如,11个氨基酸的环状化合物环孢菌素A处方合适时生物利用度较高。与Novartis的标准处方(Sandimmune)相比,微乳处方(Neoral)的AUC和 $c_{max}$ 增大,降低了 $t_{max}$ 、个体差异及胆汁在吸收中的作用<sup>[11,12]</sup>。Sandimmune处方中环孢菌素的口服吸收见图1。如表1所示,除环孢菌素外,蛋白质类药物的口服给药取得的进展极为有限。口服给药后,在体循环中可以检测到生长激素、胰岛素和降钙素,但是这些药物的吸收是完全无效的。通常口服给药需要超过1000倍的药量才能产生与静脉或皮下注射相当的药效。由于口服给药具有增加患者顺应性、减少住院治疗费用等优点,所以蛋白质药物口服给药在减少医疗费用方面极为关键。然而蛋白质药物口服给药遇到的主要问题包括蛋白质的亲水性和分子体积大引起的较差的内在透过性,由肠蛋白酶和肽酶引起的体循环前酶代谢,化学不稳定性(如聚集),和(或)对许多物理和生物表面的非特异性结合。因为蛋白质类药物非常容易受上述因素影响,所以其给药系统必须综合考虑这些因素,以实现较高的生物利用度<sup>[13]</sup>。

尽管采取了一些措施解决口服生物利用度的问题,但应该首先理解生物利用度低的原因。如果是由于膜渗透性较差,可以在处方中加入可短时间改变生物膜的吸收促进剂。如果是由于体循环前酶代谢,有以下几种方法可以降低:使用蛋白酶抑制剂降低肠酶的活性,对肠环境进行短暂的调整<sup>[14]</sup>;调节局部pH,从而使消化道中的特异性酶最少<sup>[15-17]</sup>;保持局部药物的高浓度以饱和酶;由于肠蛋白水解酶活性、稀释和扩散方式不同以及表面积的差异等,进行区域靶向<sup>[18,19]</sup>。另外,还可以对蛋白质做化学修饰,产生前药和类似药<sup>[20-23]</sup>;取代D-氨基酸来减少水解作

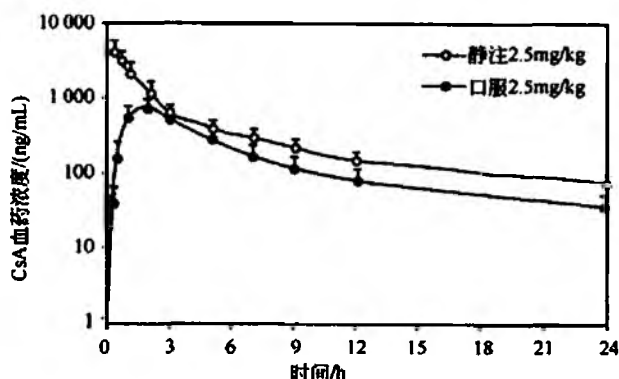


图1 22名患牛皮癣的患者静注2.5mg/kg环孢菌素A(CsA)和口服同样剂量的Sandimmune溶液的平均血药浓度-时间曲线。静脉滴注为0.5%CsA溶于0.9%NaCl中的溶液,滴注2h,一周后口服100mg/mL的Sandimmune溶液。平均生物利用度为44%(22%~63%)。数据来源于Galla F, Marzocchi V, Croattino L, Poz D, Barakdo M, Furianut M. Oral and Intravenous Disposition of Cyclosporine in Psoriatic Patients. Ther. Drug Monitor., 1995, 17: 302~304

用<sup>[23-24]</sup>;以及使用生物黏附性聚合物,通过抑制蛋白水解酶的作用或降低紧密联结的阻力来增强蛋白质类药物的吸收<sup>[25]</sup>。

为促进蛋白质类药物在肠内的吸收,在靶向特异性的吸收载体方面(如单糖或胆汁酸载体)或调节P-糖蛋白(Pgp)的分泌载体活性方面也做了许多尝试<sup>[9]</sup>。实验表明,不稳定肽类和糖的偶合可以改善水解稳定性和膜的渗透性<sup>[26]</sup>。胰岛素被对硝基苯- $\alpha$ -D-葡萄糖吡喃糖苷和对硝基苯- $\alpha$ -D-甘露糖吡喃糖苷修饰后,通过一种未知的机制增强了膜渗透性,减少了酶的水解<sup>[27]</sup>。在调节分泌载体方面,肠吸收与P-糖蛋白有关的一些多肽,比如环孢菌素,当使用泵出载体抑制剂时,吸收有一定程度的增强<sup>[28]</sup>。另外一种给药策略是使用大分子配体。近年来,随着大分子和微粒的内在化,细胞和分子机制得到研究<sup>[10]</sup>。尽管目前认为内吞途径是完全无效的,但为了提高效率,在诸如Caco-2和狗肾传代细胞(MDCK)之类的细胞培养模型中仍在研究这种机制。通过更好地理解靶向细胞膜的转运机制或调节生物屏障,蛋白质药物的口服生物利用度可能得到提高。由于蛋白质药物要达到有效血药浓度必须克服多种生物学屏障,所以目前蛋白质药物的口服给药在一段时间内仍然面临一定的挑战。

### 2. 黏膜给药

黏膜血管丰富,而且易于到达,所以可以成为蛋白质类药物的给药途径。黏膜包括鼻黏膜、口腔黏膜、眼部黏膜、直肠黏膜和阴道黏膜<sup>[29]</sup>。黏膜给药的优势在于可以避开肝脏的首过作用并且方便易行,还可以使用局部促进剂,如渗透增强剂、酶抑制剂和黏膜抑制剂。

黏液是一种强黏性物质,覆盖在器官与外界的接触面

## D

上,形成了一个保护性的外罩。黏液是大分子糖蛋白(黏液素)、水、电解质、脱落的上皮细胞、酶、细菌和细菌产物等组成的混合物,还含有不同的其他物质,依来源和部位不同而不同<sup>[30]</sup>。黏液素由排列在黏膜上皮层的杯状细胞或者具有黏液腺泡的特殊的外分泌腺合成。黏膜黏附性聚合物作为蛋白质药物输送的平台受到了相当大的关注,它的优点在于:可以局部输送药物;延长滞留时间;优化与吸收表面的接触从而调节组织渗透性,进而抑制酶的活性或抑制黏液物质<sup>[25~30]</sup>。生物黏附性结合可以是物理结合或机械结合,次级化学结合或一级化学结合。其他蛋白质黏膜给药的方法包括制成蛋白质的脂质体<sup>[7]</sup>、微乳和微粒(如纳米粒)<sup>[31,32]</sup>,这三种剂型的共同原理是使蛋白质在吸收前在局部环境中得到保护,并且使蛋白质集中在细胞膜上或细胞膜附近,增加被动扩散动力。

## 2.1 鼻腔给药

鼻腔途径方便易行,从而得到广泛的研究<sup>[33]</sup>。鼻黏膜由单层柱状上皮和杯状细胞组成,表面积较大(约200cm<sup>2</sup>),血管丰富。鼻黏膜下广泛存在的毛细血管网为蛋白质的系统转运提供了重要的动力。由于黏膜表面被黏液素所覆盖,这些黏液素每15~30分钟清除一次,所以药物溶液在鼻黏膜的保留时间很短,因此需要使用生物黏附性高分子溶液来延长滞留时间。实验表明这种途径适用于含10个或10个以下氨基酸残基的肽类,而对于含20个或20个以上氨基酸残基的蛋白质来说,必须加入渗透促进剂才能得到满意的生物利用度<sup>[33]</sup>。

鼻黏膜上有多肽水解酶,在所有的外肽酶和内肽酶中,主要的酶是氨肽酶。细胞色素P450在鼻上皮嗅觉区域的活性比在肝中高<sup>[34]</sup>,另外在鼻上皮中还发现了Ⅱ相酶的活性<sup>[34]</sup>。甲状腺释放激素(TRH)和蛋内啡肽在人鼻单层上皮细胞的代谢清除率表明,鼻黏膜对蛋白质药物的系统转运是一个重要的代谢屏障<sup>[35]</sup>,因此为了成功地进行蛋白质给药,通常在鼻黏膜给药系统中加入渗透促进剂和蛋白酶抑制剂。鲑鱼降钙素(sCT)的经鼻吸收情况如图2所示,与肌肉注射相比,sCT的鼻内给药(IN)生物利用度比较低(3.9%~7.9%);当在鳗鱼降钙素(eCT)制剂中加入甲磺酸萘莫司他(一种蛋白酶抑制剂)或者癸酸钠(一种脂肪酸钠盐)时,eCT的鼻腔吸收非常显著,血清钙浓度明显下降。目前,布舍瑞林、去氨加压素、催产素和降钙素等药物的鼻腔给药制剂在临床上得到应用<sup>[29]</sup>。

## 2.2 口腔黏膜给药

蛋白质药物的口腔黏膜给药途径也受到相当大的重视<sup>[37]</sup>。尽管它有明显的缺点,如吸收表面积小、黏膜渗透性较差,然而口腔黏膜途径适用于较小或中等大小的肽类药物。它的优点是避免了胃肠道(GI)或肝的首过效应,可以实现局部控释给药,给药方便,可以及时去除给药装置,以及可以持续给药并延长药物作用时间。口腔上皮的平均厚度为500~600μm。外表面的上皮细胞由于咀嚼磨损

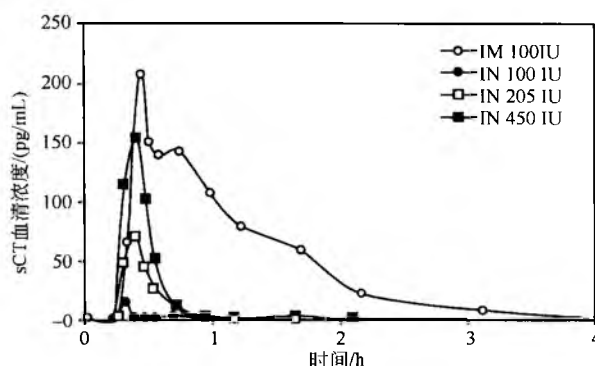


图2 10名健康志愿者(7男3女)肌注100IU的sCT和鼻腔给药100IU、205IU和450IU的sCT与0.5%的牛磺-24,25-二氢夫西地酸钠(STDHF)的平均血清鲑鱼降钙素浓度-时间曲线。相对于肌肉注射,含有0.5%STDHF的鼻腔给药生物利用度分别为3.9%、7.9%和7.4%。鼻腔给药剂量为每只鼻孔100μL喷剂,使用两个单剂量喷剂。sCT-STDHF制剂临用前将sCT固体复溶于无菌等渗的NaCl溶液中,得到含有0.5%STDHF的20mmol/L乙酸缓冲液,pH为5.0。数据来源于Lee W A, Ennis R D, Longenecker J P, Bengtsson P. The Bioavailability of Intranasal Salmon Calcitonin in Healthy Volunteers with and without a Permeation Enhancer. Pharm.

Res, 1994, 11: 747~750

而经常脱落。新的上皮细胞由位于基底层上的未分化细胞有丝分裂而成。经过5~8天从基底层到外表面的迁移,上皮细胞逐渐成熟,并引起形状和大小的改变。

与鼻黏膜和阴道黏膜相比,口腔黏膜蛋白水解酶活性较强,这种代谢活性主要表现在上皮细胞<sup>[38]</sup>。用家兔试验评价了催产素(OT)的黏膜黏附性贴片,该制剂处方中加有卡波姆947P和聚硅酮<sup>[39]</sup>,结果表明,与使用安慰剂贴片的对照动物组相比,催产素的血浆浓度在0.5~3.0h维持在对照组血药浓度的20~28倍。一些透黏膜治疗系统(TmT)被应用于增加/控制促黄体生成素释放激素(LHRH)在狗的给药<sup>[40]</sup>。TmT是一种田径场形状的、由快速释药层和持续释药层组成的双层黏膜黏附性装置。每天有0.5~2.0L的唾液持续地清洗口腔,所以覆盖在口腔上皮细胞的唾液层对药物的渗透性和口腔黏膜给药装置的黏附性有一定的影响。所以在设计口腔黏膜给药时,必须考虑以下几个因素:药物的味道和赋形剂、剂型的大小、将药物黏附在口腔黏膜上的机理。然而,即使在最佳条件下,蛋白质药物的口腔黏膜吸收仍然难以达到其他黏膜给药相同的生物利用度。因此蛋白质药物口腔黏膜给药系统仅局限于一些特定的情况和具有高渗透性的特定蛋白质。但是在此情况下,由于口服剂型较好的顺应性和依从性以及上皮细胞无可比拟的活力,口腔黏膜给药是更佳的途径。

## 2.3 眼部给药

眼部途径也被研究用于蛋白质药物的输送<sup>[41,42]</sup>。经眼局部给药后,蛋白质经结膜和鼻黏膜(通过鼻泪管到达鼻

黏膜)吸收进入体循环。当需要全身吸收时,通过结膜和鼻黏膜的吸收量应该最大化。蛋白质经眼给药进而达到全身吸收具有以下几个优点:给药方便;吸收/起效迅速;避免肝脏的首过效应;适用于控释给药系统。虽然这种给药途径易于被患者接受,但是生物利用度较低。同其他吸收途径一样,分子大小、电荷以及蛋白质的亲水性是决定吸收程度的主要因素。因为蛋白质药物的全身吸收取决于其转运机制以及和结膜、鼻咽部黏膜的接触时间<sup>[43]</sup>,所以需要考虑以下因素:①角膜前因素,如泪管、滴注体积、黏度、pH和张力;②眼药处方必须避免可能的局部刺激性和(或)副作用;③当药物分子质量大于10 000Da时,必须加入渗透促进剂。

在加入渗透促进剂的情况下,胰岛素和胰高血糖素经眼给药可以作为注射给药的易行的替代方法<sup>[44]</sup>。

#### 2.4 直肠给药

直肠上皮呈柱状或立方形,并含有许多的杯状细胞。与小肠不同,直肠上皮不含绒毛;人小肠表面积达2 000 000cm<sup>2</sup>,而直肠长5in,表面积只有200~400cm<sup>2</sup>。因此,直肠部位的吸收远远低于胃肠道其余部位的吸收<sup>[45]</sup>。直肠的下腔静脉系统(下腔静脉和中部静脉)通过回肠静脉和腔静脉与体循环直接相连,而上腔静脉系统(直肠上腔静脉)与门静脉相连,因此直肠可以减少肝首过效应的影响。直肠还有很多的淋巴管,可以将药物靶向定位于淋巴循环。

关于蛋白质(尤其是胰岛素)的直肠吸收方面的研究报道较多。但是由于胰岛素的膜渗透性较差,而且在吸收部位代谢,直肠对胰岛素的吸收较低<sup>[46]</sup>。因此蛋白质类药物的直肠给药系统中需要加入吸收促进剂,来达到治疗的有效血药浓度。直肠给药非常适用于口服比较困难的婴幼儿。直肠向来不是一个大家接收的给药部位,主要只应用于局部治疗(如痔疮),或应用于注射和口服困难的患者(如老人、婴儿、癫痫病患者)的全身治疗。直肠给药虽然可以实现多肽类药物的全身吸收,却不为广大人群所接受。

#### 2.5 阴道给药

阴道壁由上皮层(上皮薄层和固有层)、肌层和外膜组成,随生殖系统的周期性改变而调节,并直接受到激素[如雌激素、黄体酮、促黄体生成激素(LH)和促卵泡激素(FSH)]水平的调控<sup>[45]</sup>。在青春期前,上皮细胞非常薄;青春期后,在雌激素作用下变厚;成年后,阴道表面在排卵阶段均匀地覆盖着大表面多角细胞,这种细胞在雌激素的刺激和角化作用下,有高度的增殖能力,因而上皮细胞的厚度和层数增加。固有层是上皮细胞专有的结缔组织,含有血液循环系统、淋巴系统和神经纤维网络。阴道上皮是无腺体的,但表面通常覆有润湿层。阴道腔的pH主要由乳酸控制,乳酸由正常的微生物群——阴道杆菌(Doderlein's bacilli)将糖原分解而生成。阴道的动脉血供

应主要由内回肠动脉的内脏分支提供,静脉血主要通过子宫静脉返回回肠静脉。

据悉,几种肽类激素和抗原蛋白质可以通过阴道膜完全吸收,而且由于阴道给药细胞间通透性较高、避开了肝脏的首过效应,所以生物利用度高于口服给药。正常大鼠和卵巢切除的大鼠模型实验表明,由子宫转运的胰岛素和降钙素的降血糖和降血钙的疗效和持续时间同皮下注射的效果相当<sup>[47]</sup>。在酶的屏障作用方面,阴道上皮中几乎没有发现酶,在家兔吸收黏膜上甚至没有对抗脑啡肽、P物质、胰岛素和胰岛素原的酶。事实上,家兔阴道、鼻腔、口腔、直肠和回肠黏膜的均质上清液表现出相似的蛋白水解活性<sup>[48]</sup>。使用强效生物黏附聚合物-透明质酸苯醚(HyaHII)制得的sCT阴道给药制剂用于卵巢切除的大鼠,可以使其紧密地黏附在黏膜表面,并保护药物避免被酶灭活,疗效显著。目前市场上抗细菌、抗真菌或抗病毒药物的阴道给药制剂大多应用于阴道局部给药。

### 3. 肺部给药

肺部给药是蛋白质全身给药中最引人注目的途径。在蛋白质的所有非侵入性给药系统中,肺部给药的数据最鼓舞人心,并且最近在生物技术产业上引发了极大的兴趣<sup>[49,50]</sup>。肺部给药的优点在于肺泡壁比其他上皮/黏膜薄、表面积大,而且肺可以得到心脏的全部血液供应。当然,肺部有丰富的肽水解酶、肽酶和各种各样的蛋白酶,克服这个障碍并非易事。呼吸道具有以下几个特性<sup>[51]</sup>:①接触面积大,而且几乎可以同时与药物接触,而肠道虽然具有相似的总面积,但却不能同时接触药物;②血液流速快,避免已吸收的药物直接被肝脏清除;③代谢活性相对较小。

上呼吸道包括气管和大支气管,同肺泡相比,吸收表面积较小,而肺泡占肺表面积的95%以上。呼吸道上排布了一层柱状上皮细胞,小呼吸道和肺泡的上皮细胞逐渐非圆柱化。大呼吸道上皮细胞上覆盖有纤毛,辅助清除肺上的物质。肺部的肺泡上有两种类型的上皮细胞:I型肺泡上皮细胞和II型肺泡上皮细胞。I型细胞覆盖肺泡面积的95%,呈扁平状;而II型上皮细胞是立方细胞,没有延伸,可以变异为I型细胞,并参与上皮细胞损伤后的修复。肺泡上皮细胞覆盖面积大,是蛋白质转运的主要场所。从鼻腔到肺下部的通道比口腔到肺下部的通道窄,因而经鼻到肺部给药后,药物被过滤,转运效果较差。因此,研发了经口吸入肺部的气雾剂装置。药物在干粉吸入器、液雾发生器和喷雾器的作用下,形成干粉和液滴,被吸入肺部。产生的干粉和液滴微粒的粒径介于1~5μm,可以渗透到肺泡内部,一旦在肺泡中沉积,由于肺泡的表面积较大(8~140m<sup>2</sup>),药物迅速进入肺循环。

文献报道,分子质量大于100 000Da的分子比较适合肺部给药。目前一些蛋白质的肺部给药系统正在研究中,包括胰岛素、降钙素、促黄体生成素释放激素(LHRH)类似物、粒细胞刺激集落因子(gCSF)和人生长激素

D

## D

(hGH)。饭后吸入规定剂量的胰岛素,对血糖的控制效果与皮下注射(SC)相当,安全有效,对于Ⅰ型和Ⅱ型糖尿病患者都适用<sup>[52]</sup>。而且吸收、消除迅速,血药浓度达峰时间是5~60min(皮下注射为60~150min)。为餐后血糖控制提供了更加贴切和便利的治疗。Deftos等<sup>[53]</sup>评价了sCT干粉吸入剂的肺部给药疗效,相同剂量下,受试者经肺部吸入(IP),相对生物活性为肌肉注射(IM)的28%,相对生物利用度为66%(图3)。

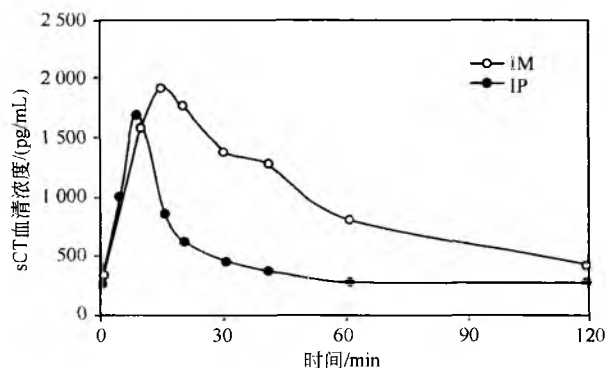


图3 10名男性健康者肌注sCT 100IU和肺部给药160IU或320IU的平均血清药物浓度-时间曲线<sup>[53]</sup>。sCT采用干粉吸入剂给药,将血清浓度除以剂量进行剂量调整。时间为0的表现浓度为RIA分析的空白,120min后sCT没有明显的变化。按剂量比较,肺部给药的生物活性为66%,生物利用度为肌注的28%

#### 4. 透皮给药

关于蛋白质透皮给药方面的研究很多,但临床应用还是局限于非蛋白质药物<sup>[54]</sup>。蛋白质类大分子药物不能透过皮肤,主要是因为正常情况下角质层的物理屏障以及蛋白水解酶阻止了任何的穿透。一般认为分子质量在1000Da以下的药物才能透皮给药,但也有一些关于大分子药物被动扩散透过角质层的报道。除了分子大小以外,药物的脂蛋白分配系数也十分重要。皮肤中也存在可以代谢蛋白质的酶,尽管其代谢活性比肝中小得多,但其组成和代谢情况与肝相似<sup>[55]</sup>。

人们尝试了许多策略,用于克服这些障碍,包括使用蛋白酶抑制剂抑制酶活性、使用渗透促进剂可逆性减少角质层的屏障作用。另外还有使用电场(离子导入)和超声波(超声波导入)促进药物透过皮肤的方法,但蛋白质相对分子质量大、荷电低,透皮效率有限。Green<sup>[56]</sup>和 Sighh等<sup>[57]</sup>曾对离子导入做过综述。

离子导入法产生的电势梯度促使溶液中的离子进行跨膜运动,这种方法在多汗症的治疗中取得了巨大成功。但是离子导入法只能应用于可以电离的强亲水性蛋白质的连续给药,而且需要较长的时间持续供给电场。如图4所示,应用人体实验评价了带正电荷的降钙素类似物(相对分子质量约为3000)离子导入透皮给药后的安全性、有效性和

重现性。一些肽类(如抗炎素1)的离子导入法给药取得了一定成功<sup>[58]</sup>。近年来也有文献报道,在低频超声波的辅助下,大分子蛋白质如胰岛素(≈6000Da)、 $\gamma$ -干扰素(≈17000Da)以及红细胞生成素(≈30400Da)可以经皮给药达到治疗效果<sup>[58]</sup>。

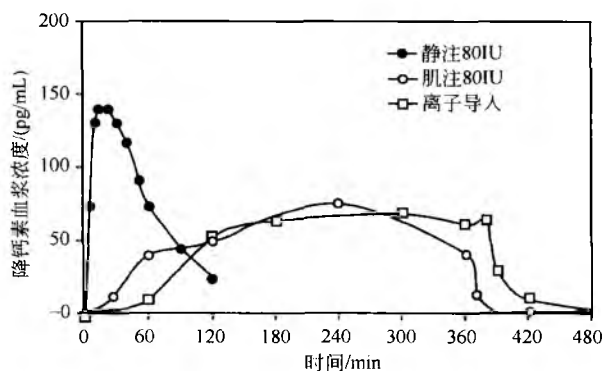


图4 12名健康男性志愿者6h离子导入降钙素类似物肽的平均血浆药物浓度-时间曲线<sup>[56]</sup>。图中还显示了8名静注80IU 6h和11名肌注80IU的结果。表明血药浓度能快速达到稳态,而血药浓度的下降是吸收限速的,更像是肌注的情况。时滞很短,与透过皮肤最外层的结果一致,但比一般的被动扩散短。含药物和安慰剂的贴剂使用时的电流密度为200 $\mu$ A/cm<sup>2</sup>,持续时间6h。定时取样进行药动力学评价,采用RIA测定样品

## 口服给药策略

本章接下来主要讨论改进蛋白质类药物口服生物利用度的策略,并着重介绍sCT方面的经验。sCT是一种内源多肽激素,由32个氨基酸组成,在体内钙平衡和骨重建方面发挥着重要作用<sup>[59]</sup>。临床上使用的有四种降钙素,即合成人降钙素、合成鲑鱼降钙素、天然猪降钙素和合成鳗鱼降钙素类似物。目前降钙素通常采用注射或鼻腔给药<sup>[61,62]</sup>。为有效抑制骨代谢紊乱现象,如佩吉特氏病和骨质疏松症,必须长期、频繁、大剂量使用降钙素<sup>[63]</sup>,因而口服是首选给药途径。但是,由于胃肠道内的蛋白水解作用和体内肠黏膜的渗透性较差,即使sCT的药效是人降钙素(150~200IU/mg)的20~30倍<sup>[64~66]</sup>,口服降钙素的生物利用度仍然太低,必须使用高剂量(4000~6000IU/mg)。sCT独特的结构保护本身在肝脏中不被螯合和代谢<sup>[67]</sup>。应用sCT治疗骨质疏松症的给药系统有很多种,包括经鼻、透皮、经眼、口服、经支气管、直肠和阴道给药等<sup>[68]</sup>。本章介绍了增强sCT口服吸收的几种方法。

### 1. 使用渗透促进剂

据文献记载,蛋白质跨生物膜转运的渗透性很低<sup>[1,2,4,69]</sup>,这归因于它的亲水性和高相对分子质量。一些膜载体系统可以促进小肽(二肽或三肽)的吸收,但在转运肽类和蛋白质方面功效不大。为了改变肠上皮细胞膜的

屏障性质, 渗透促进剂受到了广泛关注。它的种类很多, 包括胆汁酸、水杨酸酯(盐)、脂肪酸、肉毒碱甘油酯、表面活性剂、中等链长度的甘油酯以及螯合剂等多种处方添加剂。每种促进剂的促渗机制各不相同, 但均有副作用<sup>[70]</sup>。

近年来, 我们发表了一些关于处方添加剂对 sCT 的肠吸收的促进作用的体内评价结果的文章<sup>[71]</sup>。采用大鼠空肠, 用水平扩散池评价了处方添加剂, 包括牛磺酸去氧胆酸钠(TDC)、牛磺酸胆酸钠、硬脂酸蔗糖酯、蔗糖-15-醚、吐温 80、月桂酰肉毒碱氯(LCC)、肉豆蔻肉毒碱氯、鲸蜡吡啶氯和溴棕三甲胺, 对 sCT (浓度范围 0.01% 到 1%) 的有效渗透性 ( $P_{eff}$ ) 和跨上皮电阻 (TEER) 的影响。使用 TDC, sCT 的有效渗透性最高, 为  $(2.73 \pm 0.54) \times 10^{-5} \text{ cm/s}$ , 是对照组  $[(1.91 \pm 0.45) \times 10^{-6} \text{ cm/s}]$  的 14 倍, 并且具有浓度依赖性 [图 5 (a)]。使用 LCC 的渗透增

强率是对照组的 5 倍, 吐温 80 为 3.9 倍, 牛磺酸胆酸钠是 3.2 倍, 肉豆蔻肉毒碱氯为 2.6 倍, 硬脂酸蔗糖为 2.3 倍, 鲸蜡吡啶氯为 2 倍, 蔗糖-15-醚为 1.7 倍, 溴棕三甲胺为 1.3 倍 (以上均为使用 1% 的添加剂的情况下所得的数据)。EC<sub>50</sub> 值 (渗透增加 50% 时的添加剂的浓度) 由大到小排序, 依次为 TDC、LCC > 牛磺酸胆酸钠 > 吐温 80 > 肉豆蔻肉毒碱氯 > 硬脂酸蔗糖 > 蔗糖-15-醚 > 鲸蜡吡啶氯 > 溴棕三甲胺。使用 0.1%~1% 浓度的各种添加剂 (如 TDC、LCC 和溴棕三甲胺等), TEER 均降低, 并且降低程度与浓度和作用时间相关。当洗去组织上的添加剂时, TEER 又增加 [图 5 (b)]。与 1% 浓度的添加剂接触约 100min 后, 洗去添加剂: 使用 TDC, TEER 恢复到初始值的 92%; 其他添加剂约恢复到 80%。对方添加剂的体内评价表明, 蛋白质药物的口服吸收可以通过选用渗透促进剂, 平衡渗透促进作用和副作用, 达到最大化。

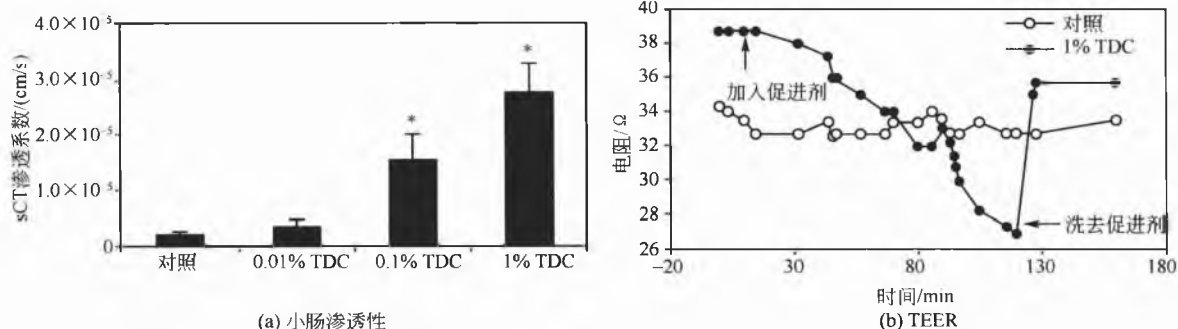


图 5 sCT 在大鼠空肠的有效渗透系数 ( $n=3$ ) (a) 和大鼠空肠加或不加 1%TDC 的跨上皮电阻与时间曲线 (b)<sup>[71]</sup>。(a) 研究了 TDA 不同的浓度 (0.01%~0.1%) 的影响, \* 表明与对照组相比有显著差异 ( $P<0.05$ )。采用水平扩散池, 组织扩散面积为  $0.636 \text{ cm}^2$ , 每个半池的体积为  $1.7 \text{ mL}$ , 采用充气法搅拌, 温度  $37^\circ\text{C}$ 。从动物取下  $1.5\sim 2 \text{ cm}$  的小肠组织, 并用生理盐水洗净 ( $\text{pH}7.4$ )。黏膜侧与含有  $50 \mu\text{mol/L}$  sCT 的  $15 \text{ mmol/L}$  的维持电解质缓冲液接触, 缓冲液中加入或不加处方添加剂 ( $\text{pH}5$ ,  $290 \text{ mOsm/kg}$ ), 浆膜侧为不含处方添加剂的缓冲液 ( $\text{pH}7.4$ ,  $290 \text{ mOsm/kg}$ )。浆膜侧在 30min、45min、60min、75min 和 90min 取样  $0.5 \text{ mL}$ , RIA 分析。有效渗透系数按 Fick 第一定律计算:  $P_{eff} = (V_r/A \cdot C_0) \cdot dC/dt$ ; 式中:  $V_r$  为接收室体积,  $A$  为吸取面积,  $C_0$  为供给室初始浓度,  $dC/dt$  为单位时间接收室的浓度变化。在有 TDC 时, sCT 的有效渗透系数增加 14 倍, 且与浓度有关。(b) 供给室和接收室与电压-电流夹连接, 测定完整组织的跨膜电阻 (TEER)。暴露的组织面积为  $1.5 \text{ cm}^2$ , 每个半池的体积为  $7 \text{ mL}$ , 将大鼠小肠组织装于池上, 两套 Ag/AgCl 电极接在电压-电流夹上, 使电流流过膜。20min 后温度和 TEER 达到平衡, 然后将黏膜暴露于含不同浓度处方添加剂 (0.01%~1%) 的  $\text{pH}4$  的维持电解质缓冲液, 平衡后测定 TEER 并在规定的时间内记录。为了测定添加剂对 TEER 的可逆性作用, 换上新鲜的无添加剂的缓冲液, 记录达到稳态的 TEER。暴露 100min 后洗去添加剂, TEER 值恢复到 TDC 初始值的 92%。

以肠和血管接口 (IVAP) 狗为模型, 研究了各种 sCT 处方的肠生物利用度<sup>[71]</sup>。文献<sup>[71]</sup>描述了 sCT 在 IVAP 狗的十二指肠 (ID)、回肠 (IL)、结肠 (IC) 和门静脉 (PV) 四个部位的吸收情况。处方 DDS1 和 DDS2 的局部 (空肠和回肠) 生物利用度远远高于对照组 [DDS1 和 DDS2 处方中分别含有鲑鱼降钙素、柠檬酸 (CA)、LCC 或 TDC]。所有

的疗法和部位, 生物利用度分别增强 98%~337%。与只有 sCT 的处方 (不含 CA) 相比, DDS1 和 DDS2 的生物利用度增强 1220%~3070%。而且 DDS1 和 DDS2 处方, sCT 的体内吸收增加程度与体外渗透促进具有良好的相关性 (图 6)。

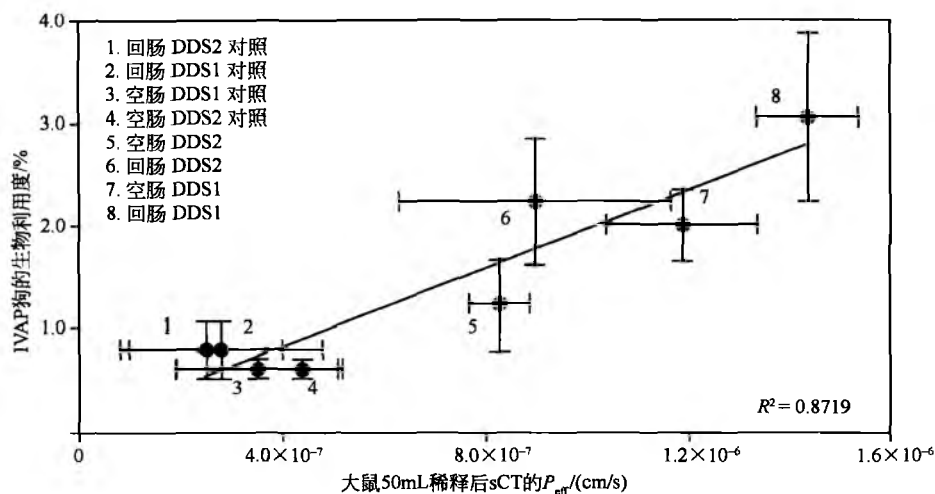


图 6 sCT 在大鼠 ( $n=3$ ) 的体外渗透系数 ( $P_{app}$ ) 与体内 IVAP 狗 ( $n=5$  或 6) 体内绝对生物利用度关系<sup>[71]</sup>。体外扩散试验采用水平扩散池进行, 浓度相当于 sCT 对照和 DDS 制剂用 50mL 缓冲液稀释。DDS1 含 sCT、CA 和 LCC; DDS2 含 sCT、CA 和 TDC。体内小肠生物利用度试验用 IVAP 狗进行, sCT 和 DDS 用 5mL 的缓冲液稀释, IVAP 口采用 22G 针经皮进行灌注。对相应的对照组相比, TDC 和 LCC 能显著提高其有效渗透系数, DDS1 和 DDS2 在回肠部分明显比空肠部分增加。所有研究的部位生物利用度有不同的增加 (98%~337%)。体内的 DDS1 和 DDS2 的 sCT 吸收与体外的渗透试验相关性很好

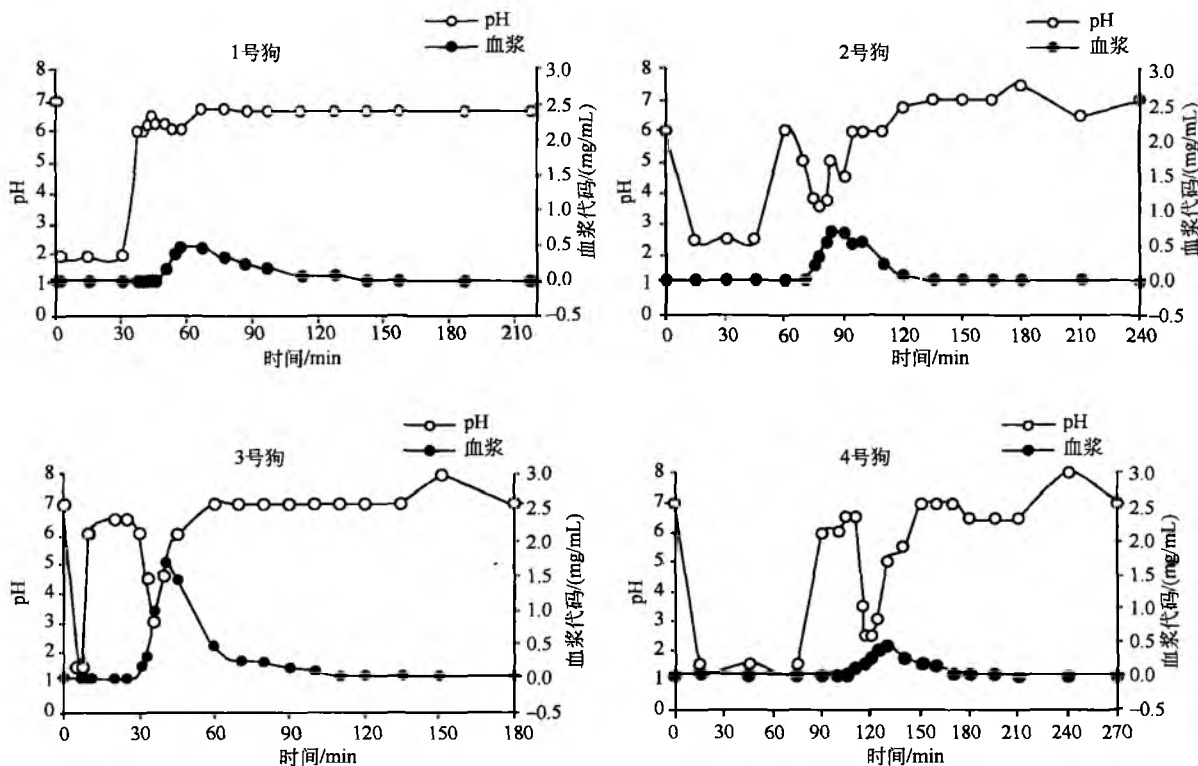


图 7 健康 beagle 狗口服 97D Heidelberg 胶囊处方后 pH 和血浆 sCT 浓度-时间曲线<sup>[77]</sup>。97D 处方含 1.15mg sCT、260.2mg CA、5.19mg LCC、52.2mg 滑石粉和 260.5mg 右旋糖 (表 2)。连续的 pH 测定采用无线的 Heidelberg 胶囊实现, 该装置为电池驱动的高频的无线电发射器和 pH 电极, 安装在直径 7mm、长度 20mm 的不降解的丙烯酸胶囊中。狗身上装有天线, 能接收无线电信号并记录下来。胶囊的电池由 37℃ 的 pH1 和 pH7 的生理盐水激活, 该胶囊用外科手术缝线系在药物胶囊上供狗口服。由于随着胃肠道不同部位的 pH 的改变, 药物胶囊溶解, pH 的改变可以看成是胶囊通过不同的部位直到其溶解。通常 Heidelberg 胶囊的 pH 精度为 0.5pH, 激活后 22h 内在 pH1~8 的体内重现性极好。4 只 beagle 狗用来测试 sCT 制剂 97D 的崩解和口服吸收, 每只狗服肠溶胶囊时饮水 10mL, 给药前和胃排空后取血样作为基础值, 给药后每隔 10min 给药直到 pH 下降, 表明试验胶囊崩解了。一旦崩解后, 取样更频繁, 为 3min、6min、9min、12min、15min、20min、30min、45min、60min、75min、90min、120min、150min 和 180min, 当小肠 pH 减小时总可以观察到 sCT 的峰浓度



## 2. 保护蛋白质不被酶降解

众所周知,蛋白质易被酶破坏,是蛋白质口服面临的重要挑战<sup>[1,3,4,72~73]</sup>。Yamamoto 等考察了各种蛋白酶抑制剂,包括肝胆酸钠、甲磺酸卡莫司他和杆菌肽素,大鼠试验研究表明,这些蛋白酶抑制剂可以通过抑制肠腔和黏膜层组织蛋白酶的活性而增强胰岛素肠和直肠给药的降血糖活性<sup>[74]</sup>。卡莫司他和阿托品等蛋白酶抑制剂也可以减少降钙素的降解<sup>[75]</sup>。经美国 FDA 认可的生物黏附性聚合物聚卡波非和卡波姆可以消耗  $\text{Ca}^{2+}$  而固定胰蛋白酶,保护肽类不被胰蛋白酶降解<sup>[76]</sup>。

一种方法是使肠酶活性最小化,包括调整肠内的 pH 为蛋白水解酶活性最小的 pH。多个实验室的研究结果均表明,使用聚丙烯酸聚合物降低 pH,可以完全抑制胰岛素、降钙素和类胰岛素生长因子 I 等蛋白质的蛋白酶的活性<sup>[16,17]</sup>。使用传统的药物动力学技术和无线遥测技术测量肠内部的 pH,考察处方的崩解、肠内 pH 的改变和多肽的血药浓度,以阐明调节 pH 对 sCT 的口服吸收的影响<sup>[77]</sup>。将 sCT 和不同量的枸橼酸 (CA) 制成肠溶性包衣制剂,与 Heidelberg 胶囊 (HC) 系在一起,给健康的 beagle 犬口服 (表 2)。采集血样并用放射性免疫测定法 (RIA) 分析,运用 HC 系统持续监测肠内部 pH。虽然给药系统的胃排空、崩解和吸收的个体差异较大,但是仍然可以看出,当肠内

pH 减小时, sCT 的血浆浓度达到峰值 (图 7)。而且,处方中 CA 的量极大地影响了肠内的 pH: 当处方中不含 CA 时,肠 pH 不会下降;含 CA 时, pH 明显下降。所有含 CA 的处方,均可测得 sCT 的血药浓度;而不含 CA 的处方 97B,在血浆中检测不到 sCT (表 2)。肠 pH 达谷值的时间 ( $t_{\text{pH},\text{min}}$ ) 与 sCT 的血药浓度达峰时间 ( $t_{\text{conc},\text{max}}$ ) 具有良好的相关性 ( $t_{\text{conc},\text{max}} = 0.95t_{\text{pH},\text{min}} + 14.1$ ,  $n=11$ ,  $r^2=0.91$ )。因此由 CA 引起的肠 pH 的降低对 sCT 的口服吸收非常重要;增加处方中 CA 的量, sCT 的口服吸收逐渐增加 (图 8)。sCT 的口服吸收或促进 sCT 的吸收与肠内 pH 下降引起的 sCT 的稳定直接相关。胰腺的胰蛋白酶在 pH5~6 时最稳定; pH 为 4 时,约保留 45% 的活性; pH3.5 时,活性只剩约 15%<sup>[78]</sup>。因此,肠内 pH 的降低对 sCT 的吸收改善有重大意义。

表 2 Beagle 狗试验用 sCT 肠溶胶囊的组成

处方	sCT/mg	CA/mg	LCC/mg	滑石粉/mg	右旋糖/mg
97B	1.11	0	55.2	55.2	552.4
97C	1.20	145.7	54.7	54.7	400.7
97D	1.15	260.2	51.9	52.2	260.5
97E	1.19	565.1	56.3	56.3	0

注: CA, 枸橼酸; LCC, 氯化月桂酰肉毒碱。

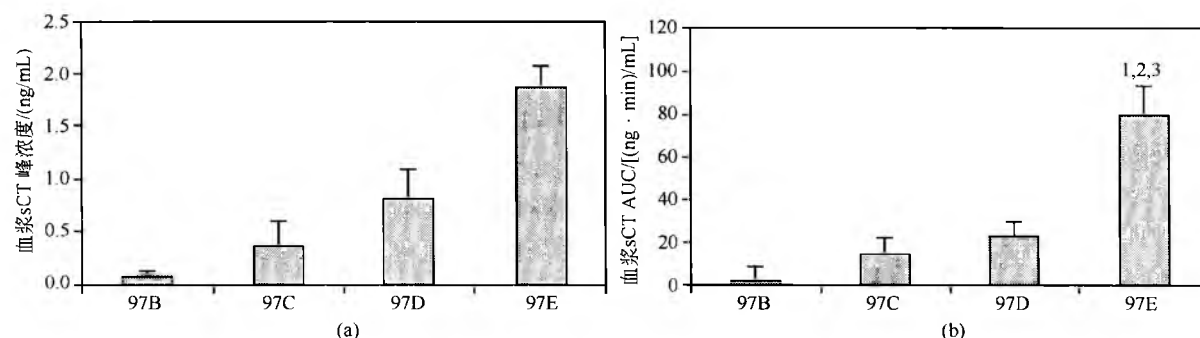


图 8 Beagle 狗口服不同处方的 sCT 血浆峰浓度  $c_{\text{max}}$  (a) 和 AUC (b) 的曲线 ( $n=3$  或 4)<sup>[77]</sup>。97E 与 97B、97C 和 97D 有显著差异 (单因素方差分析  $p<0.05$ )。提高处方中 CA 的量, sCT 的口服吸收增加

另一种保护蛋白质的方法是在口服给药处方的物理环境中对蛋白质进行保护,而不用酶抑制剂<sup>[79]</sup>。重组人白细胞集落刺激因子 (PEG-gCSF) 通过十二指肠途径给药后,可以增加稳定性和体内生物活性的保留。也有关于应用含有表面亲水性聚合链的生物黏附性纳米粒的研究报道<sup>[80]</sup>。大鼠试验表明,表面有聚异丙烯酰胺、聚乙烯胺和聚丁烯酰胺链的纳米粒,胃肠转运速率降低, sCT 的吸收得到改善,其黏膜黏附性与促进 sCT 的吸收有良好相关性。温度和 pH 敏感性聚合物也用于 hCT 的输送<sup>[81]</sup>。环境敏感性聚合物可以防止多肽类药物在胃部的降解,控制药物释放,是口服药物输送的适合载体。由聚丙烯酸 (大多为亲水性) 高含量的聚合物制备的颗粒, hCT 的载药、稳定性和释放良好,并保持了 hCT 在体内的生物活性。

## 3. 保持高的局部药物浓度

蛋白质被肠酶降解的程度取决于其浓度,且遵守米氏动力学方程。因为口服蛋白质药物的局部浓度取决于肠内的扩散和稀释模式<sup>[19]</sup>,所以调整局部药物浓度可能会改变蛋白质的口服吸收。因为 sCT 是胰腺丝氨酸蛋白酶胰蛋白的优良底物, sCT 在胃肠道腔内降解的速度取决于其在肠腔的浓度。如果降解是控制因素, sCT 的吸收在浓度较低时更容易受影响 (动力学为米氏方程的一级区)。向狗体内缓慢注入 (2mL/min) 稀溶液 [25mg/(20mL·只)], 来评价肠内的稀释和扩散对口服 sCT 的生物利用度的影响<sup>[71]</sup>。IVAP 研究表明,较慢和较大的摄入体积均可显著降低 sCT 的吸收程度,说明肠的稀释和扩散严重影响了

sCT 的口服生物利用度。Scott-Moncrieff 等报道<sup>[82]</sup>, 使用 30mmol/L 甘氨酸钠和 40mol/L 亚油酸制备的混合胶束处方直接经空肠给药, 使狗体内的胰岛素的吸收增加, 虽然表观生物利用度只有 1.8%。而同样的处方用于大鼠循环模型中, 胰岛素的生物利用度可以达到 41%。研究者认为, 狗体内的生物利用度低可能是因为处方的稀释和扩散增加了胰岛素暴露在蛋白水解酶的机会, 导致胰岛素的浓度下降。

#### 4. 局部特异性靶向

蛋白质的固有渗透性和蛋白水解酶的活性具有部位差异<sup>[18]</sup>。离体循环方法研究表明, 胰岛素在回肠和大肠中的吸收要大于在空肠中的吸收<sup>[83]</sup>。数项研究也表明在肠的末端, 酶的活性降低<sup>[72]</sup>。因而可以推测结肠是胃肠道中肽类和蛋白质类药物吸收的理想部位。这一假设的基础是结肠不含或含有很少的消化酶, 因此多肽固有稳定性较高。而小肠末端虽然具有更少的肠腔和顶点蛋白水解酶活性, 但有些顶点肽酶活性较高<sup>[84]</sup>。通过结肠定位靶向将蛋白质药物输送到大肠时, 要特别注意结肠内容物的糜蛋白酶活性

较高, 可能会降解胰岛素和降钙素<sup>[75]</sup>。

本研究小组近年来通过手术植入、长期导入的方法将 sCT 以原药的形式直接给药于 PO、ID、IL、IC 几个部位, 得出 sCT 在不同部位的药代动力学基本参数 (图 6)<sup>[71]</sup>。图 9 描述了 sCT 的狗体内的血浆浓度和生物利用度, 并将其与 PV 和 SC 途径进行了比较。经 PO 给药后, sCT 的血浆浓度低于最低定量限 (80pg/mL), 这可能是因为广泛的胃或肠的酶的降解。经 ID 给药后, sCT 的吸收非常迅速, 并在 10 分钟左右达峰。在 IVAP 狗中, 经 ID、IL 和 IC 给药后, sCT 的生物利用度分别为:  $0.039\% \pm 0.017\%$ 、 $0.064\% \pm 0.022\%$  和  $0.021\% \pm 0.004\%$ 。和其他部位相比, sCT 在结肠的生物利用度较低, 这可能与膜的渗透性较差以及寄居在结肠的特定微生物群的蛋白水解有关。提示我们可以通过加入添加剂优化处方, 将药物成功地转运至结肠。CT 在盲肠表面可以迅速地微生物群降解<sup>[85]</sup>。肽类/蛋白质类药物的结肠定位靶向给药系统的合理设计方案基于两个假设: ①结肠部位降低了胰酶的活性; ②结肠具有可以使聚合物靶向的特有的细菌活性<sup>[86,87]</sup>。

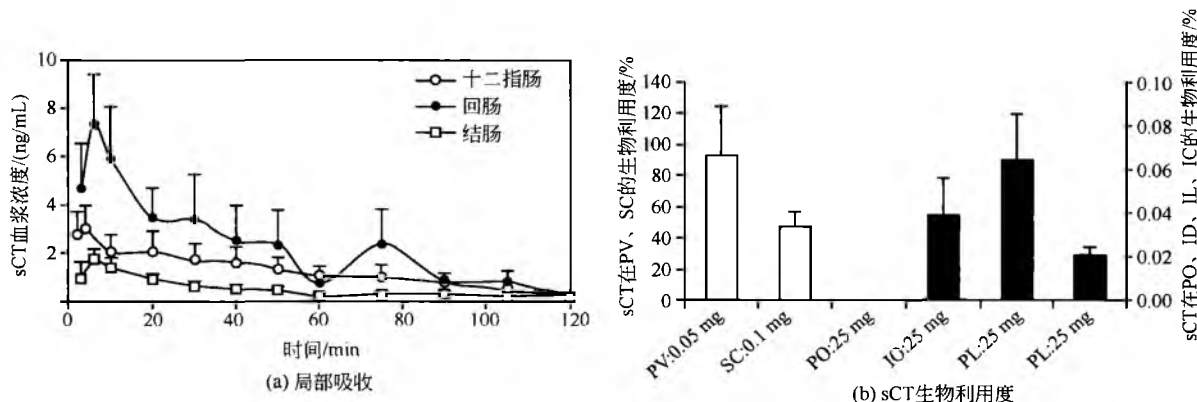


图9 IVAP狗十二指肠、回肠和结肠给药后血浆sCT浓度与时间的曲线 ( $n=5$ 到6)<sup>[71]</sup> (a) 以及IVAP狗静脉(PV50 $\mu$ g)、皮下(SC100 $\mu$ g)和结肠(IC25mg)给予sCT ( $n=4$ 到6)的平均生物利用度(b)。(a)中, IVAP灌注口采用22G针头经皮注射, sCT处方[25mg/(5mL·只)]快速注射(12mL/min), 再注射1mL水清洗口中。在1min、3min、6min、9min、12min、15min、20min、30min、45min、60min、75min、90min、120min、150min、180min和240min取血样。sCT从回肠的吸收比其它部位好<sup>[71]</sup>。(b)中, sCT的平均生物利用度门静脉为 $92.8\% \pm 32.0\%$ , 皮下为 $47.5\% \pm 9.3\%$ , 口服为0%, 十二指肠为 $0.039\% \pm 0.017\%$ , 回肠为 $0.064\% \pm 0.022\%$ , 结肠为 $0.021\% \pm 0.004\%$ 。肝对sCT的提取在IVAP狗可以忽略

sCT 的口服给药也依赖于肠的扩散和稀释模式<sup>[19]</sup>。因此, 可以通过设计合理的处方调整局部 sCT 的浓度和 pH 来改善 CT 的口服吸收。理解口服吸收的过程, 必须首先确定给药系统内容物的释放部位以及肠的有效转运时间。本研究小组使用 IVAP beagle 狗为模型, 运用无线遥测法测量肠内 pH, 放射影像观测肠道, 并用药代动力学的方法研究上端小肠 (USI) 和末端小肠 (LSI) 如何在肠的扩散和 pH 的恢复中发挥不同的作用<sup>[38]</sup>。并且研究了肠的不同部位的扩散和 pH 的恢复的差异。一个切口位于十二指肠, 另一个位于回肠。通过荧光法和 Heidelberg 法来观测肠的扩散和 pH 的恢复。将一种辐射阻隔染料和 CA 注入切口

处, 口服一枚包含辐射阻隔粉末和 CA 的胶囊。荧光镜中清晰地显示, 当辐射阻隔染料被注入十二指肠且胶囊较早崩解时, 赋型剂被明显稀释并且扩散通过一大段上端小肠。一旦混合, 内容物缓慢移动通过胃肠道。但是, 当辐射阻隔染料被注入回肠并且胶囊崩解较晚时, 赋型剂像塞子一样移动。因此药物集中在小肠下端。pH 监控的结果和荧光法的结果是同步的。在十二指肠, pH 片刻下降后迅速升高。但是在小肠的末端, 可以观测到较低的稳定的 pH 和较慢的恢复。为研究肠不同部位的扩散和 pH 恢复的差异以及对 sCT 口服吸收的影响, 给予正常雄性 beagle 犬一粒肠溶胶囊 (565mg 的 CA 和 1.2mg 的 sCT)<sup>[88]</sup>, 定时采集

血样, 用 RIA 法分析 sCT 的吸收。如图 10 和图 11 所示, 同一处方, 由于降解位置不同, 结果大不相同。因为 sCT 在较低 pH 条件下较为稳定<sup>[78]</sup>, 高浓度时易于吸收, 所以在小肠下端开始降解, 吸收最好。图 10 描述了给药系统在胃排空 (GE) 后 5min (65min) 开始在十二指肠的降解, 起初不大稳定的 pH 立即变动到 3, 随后上升至 5 以上。图 11 描述了在 GE (小于 5min) 和降解之间有 40min 的延迟的情况, pH 下降更加迅速并稳定, 保持在 5 以下将近

90min。在十二指肠降解,  $c_{\max}$  和 AUC 分别为  $1.3\text{ng/mL}$  和  $47\text{ng} \cdot \text{min/mL}$  (图 10); 在较晚的空肠和回肠降解,  $c_{\max}$  和 AUC 分别为  $4.1\text{ng/mL}$  和  $234\text{ng} \cdot \text{min/mL}$  (图 11)。这些结果表明了 sCT 的特定部位的吸收, 并且显示了其吸收与给药系统在小肠中的有效通过时间 (即在 GE 后的降解时间) 相关, 当降解发生在小肠的中端至下端时, sCT 的血浆水平较理想。

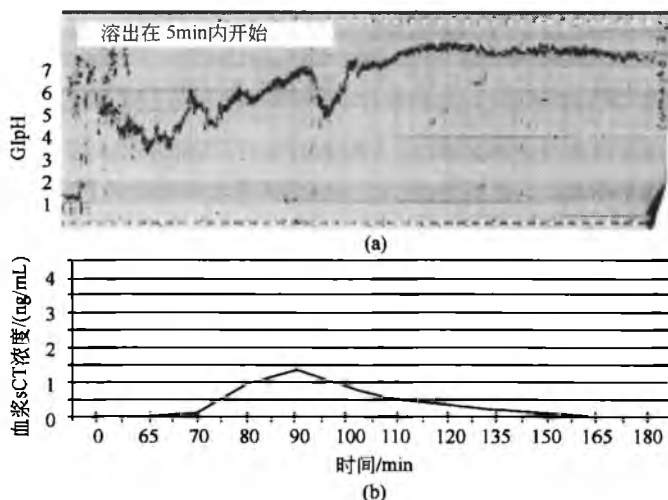


图 10 健康狗口服含 565mg 枸橼酸和 1.2mg 的 sCT 的制剂后, 肠溶胶囊在十二指肠崩解, 十二指肠 pH 恢复 (a) 和 sCT 吸收 (b) 的曲线。肠溶包衣胶囊用手术缝线系到 HC 后, 给狗口服 10mL 水, 给药前和胃排空后取两个基础样品, 从胶囊进入小肠后, 每 10min 取一份血样, 当 pH 开始下降时, 表明胶囊崩解, 取样更密集, 3min、6min、9min、12min、15min、20min、30min、45min、60min、75min、90min、120min、150min 和 180min。用转运时间估计小肠的部位, 在 65min 时胃排空, 5min 后胶囊在十二指肠崩解。开始时 pH 为 3, 很快升到 5<sup>[88]</sup>

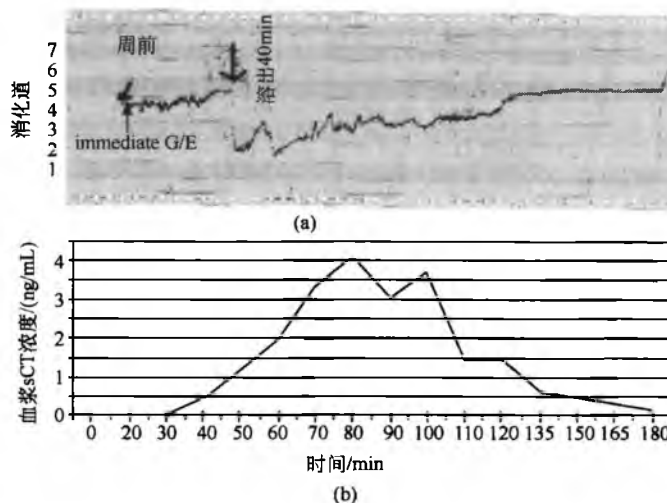


图 11 健康狗口服含 565mg 枸橼酸和 1.2mg 的 sCT 的制剂后, 肠溶胶囊在下空肠崩解, 下空肠/回肠的 pH 恢复 (a) 和 sCT 吸收 (b) 的曲线。图示在胃排空和崩解之间有 40min 的延迟, 观察到的 pH 下降很明显, pH 低于 5 近 90min, 当崩解在下小肠进行时吸收更好<sup>[88]</sup>

## D

## 5. 化学修饰

多肽和蛋白质具有一些有机小分子药物不具有的物理和化学性质,结构复杂,在处方设计中必须考虑稳定性问题和自身的聚集问题。胰岛素易于形成六聚体,而六聚体的吸收与单体截然不同。Hovgaard 等<sup>[89]</sup>报道了用烷基糖类表面活性剂(如十二烷基麦芽糖)减少胰岛素的聚合,胰岛素-十二烷基麦芽糖复合物还可以避免蛋白质酶的降解。人降钙素也易于自身重组形成纤维状结构,使生物活性大大降低<sup>[90]</sup>。使用不同的表面活性剂,可以使蛋白质在释放阶段的单体浓度最大,并使穿越上皮细胞层的复合物体积最小化。另外一种可行的方法是对蛋白质进行化学修饰,产生前药和类似物。这种方法有利于保护蛋白质不被蛋白酶或黏膜上其他酶降解,并使蛋白质亲脂化,从而增加生物利用度。使用脂肪酸或 *N*-乙酰- $\alpha$ -氨基酸修饰降钙素(CT)<sup>[22]</sup>,与天然 CT 相比,肠内吸收显著增加<sup>[20,21]</sup>。用脂肪酸酰化多肽,可以使肽的稳定性和渗透性大大改善,并且所得氨基酸衍生物只能微弱地被胰蛋白酶或亮氨酸氨基酸肽酶抑制。另外, D-氨基酸取代物在消化液和血浆中的稳定性也得到改善<sup>[23,24]</sup>。以环孢菌素为例,通过化学修饰,11 个氨基酸的环状化合物的生物利用度有了惊人的提高,在胃肠道的稳定性得到了改善,脂溶性增强,从而膜的渗透性增强。通过微乳处方给药时,50%或更多的分子可以被胃肠道吸收<sup>[11,12,91]</sup>。对小分子肽的化学修饰保护了肽的生物结构,使其不受酶的进攻,保持一定的生物活性,取得了一些成功;但是在高分子多肽方面没有取得成功。

## 结论

由于在长期治疗中,注射给药患者的顺从性较差,临床应用受到限制,所以建立多肽和蛋白质类药物的口服给药系统非常重要。口服给药,患者的耐受性和顺从性好,并且节省成本。因为非侵入性途径给药不需要消毒操作,而且不需要医护人员的直接参与。尽管肽类口服给药系统的研究和市场化取得了一定的成绩(如环孢菌素),但是由于蛋白质类药物的透膜吸收较差、易水解,生物利用度低,临床开发受到限制。较好的控制药物释放和合理的设计处方非常必要。蛋白质转运系统面临的问题不容忽视,而且不可能只做小小的改进就能解决问题。而且阻碍蛋白质吸收的屏障(渗透性、酶降解、体循环前酶代谢和化学物理稳定性)对每种蛋白质都各不相同,所以应该根据实际情况逐个研究和开发有效而安全的输送系统。本章着重介绍了促进口服吸收的各种方法。调节肠环境的方法有:调节肠的通透性、限制肠酶的活性、保持高的局部药物浓度和局部靶向。使用这些策略,构建了 sCT 的口服给药系统并且成功地应用于人体试验。

## 参考文献

1. Zhou, X. H. Overcoming Enzymatic and Absorption Barriers to Non-Parenterally Administered Protein and Peptide Drugs. *J. Controlled Release* 1994, 29, 239—252.
2. Amidon, G. L.; Lee, H. J. Absorption of Peptide and Peptidomimetic Drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1994, 34, 321—341.
3. Lagguth, P.; Bohner, V.; Heizmann, J.; Merckle, H. P.; Wolfram, S.; Amidon, G. L.; Yamashita, S. The Challenge of Proteolytic Enzymes in Intestinal Peptide Delivery. *J. Controlled Release* 1997, 46, 39—57.
4. Lee, V. H. L.; Yamamoto, A. Penetration and Enzymatic Barriers to Peptide and Protein Absorption. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1990, 4, 171—207.
5. Bai, J. P.; Amidon, G. L. Structural Specificity of Mucosal-Cell Transport and Metabolism of Peptide Drugs; Implications for Oral Peptide Drug Delivery. *Pharm. Res.* 1992, 9, 969—978.
6. Pettit, D. K.; Gombotz, W. R. The Development of Site-Specific Drug-Delivery Systems for Protein and Peptide Biopharmaceuticals. *Trends Biotechnol.* 1998, 16, 343—349.
7. Wearley, L. L. Recent Progress in Protein and Peptide Delivery by Noninvasive Routes. *Crit. Rev. Ther. Carrier Syst.* 1991, 8, 331—394.
8. Dantzig, A. H. Oral Absorption of b-Lactams by Intestinal Peptide Transport Proteins. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1997, 23, 63—76.
9. Tsuji, A.; Tamai, I. Carrier-Mediated Intestinal Transport of Drugs. *Pharm. Res.* 1996, 13, 963—977.
10. Lee, V. H.; Chu, C.; Mahlin, E. D.; Basu, S. K.; Ann, D. K.; Bolger, M. B.; Haworth, I. S.; Yeung, A. K.; Wu, S. K.; Hamm-Alvarez, S.; Okamoto, C. T. J. Biopharmaceuticals of Transmucosal Peptide and Protein Drug Administration; Role of Transport Mechanisms with a Focus on the Involvement of PepT1. *J. Controlled Release* 1999, 62, 129—140.
11. Noble, S.; Markham, A. Cyclosporin. A Review of the Pharmacokinetic Properties, Clinical Efficacy and Tolerability of a Microemulsion-Based Formulation (Neoral). *Drugs* 1995, 50, 924—941.
12. Schroeder, T. J.; Cho, M. J.; Pollack, G. M.; Floc'h, R.; Moran, H. B.; Levy, R.; Moore, L. W.; Pouletty, P. Comparison of Two Cyclosporine Formulations in Healthy Volunteers; Bioequivalence of the New Sang-35 Formulation and Neoral. *J. Clin. Pharmacol.* 1998, 38, 807—814.
13. Neutra, M. R.; Kraehenbuhl, J. P. Transepithelial Transport of Proteins by Intestinal Epithelial Cells. *Biological Barriers to Protein Delivery*; Audus, K. L., Raub, T. J., Eds.; Plenum Press: New York, 1993;

- 107—129.
14. Bernkop-Schnurch, A. The Use of Inhibitory Agents to Overcome the Enzymatic Barrier to Preorally Administered Therapeutic Peptides and Proteins. *J. Controlled Release* 1998, 52, 1—16.
  15. Friedman, D. I.; Amidon, G. L. Oral Absorption of Peptides; Influence of pH And Inhibitors on the Intestinal Hydrolysis of Leu-Enkephalin and Analogues. *Pharm. Res.* 1991, 8, 93—96.
  16. Bai, J. P.; Chang, L. L.; Guo, J. H. Effects of Polyacrylic Polymers on the Luminal Proteolysis of Peptide Drugs in the Colon. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 1291—1294.
  17. Bai, J. P.; Chang, L. L.; Guo, J. H. Effects of Polyacrylic Polymers on the Degradation of Insulin and Peptide Drugs by Chymotrypsin and Trypsin. *J. Pharm. Pharmacol.* 1996, 48, 17—21.
  18. Woodley, J. F. Enzymatic Barriers for GI Peptide and Protein Delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 1994, 11, 61—95.
  19. Grundy, D. *Gastrointestinal Motility*; MTD Press Limited; 1985.
  20. Yamamoto, A. Improvement of Intestinal Absorption of Peptide and Protein Drugs by Chemical Modification with Fatty Acids. *Nippon Rinsho* 1998, 56, 601—607.
  21. Muranishi, S. Delivery System Design for Improvement of Intestinal Absorption of Peptide Drugs. *Yakugaku Zasshi* 1997, 117, 394—414.
  22. Leone-Bay, A.; Santiago, N.; Achan, D.; Chaudhary, K.; DeMorin, F.; Falzarano, L.; Haas, S.; Kalbag, S.; Kaplan, D.; Leipold, H.; Lercara, C.; O'Toole, D.; Rivera, C.; Rosado, C.; Sarubb, D.; Vuocolo, E.; Wana, N.; Milstein, S.; Baughman, R. A. N-acylated Alpha-Amino Acids as Novel Oral Delivery Agents for Proteins. *J. Med. Chem.* 1995, 38, 4263—4269.
  23. Krondahl, E.; Orzechowski, A.; Ekstrom, G.; Lennernas, H. Rat Jejunal Permeability and Metabolism of Mu-Selective Tetrapeptides in Gastrointestinal Fluids from Humans and Rats. *Pharm. Res.* 1997, 14, 1780—1785.
  24. Hong, S. Y.; Oh, J. E.; Lee, K. H. Effect of D-Amino Acid Substitution on the Stability, the Secondary Structure, and the Activity of Membrane-Active Peptide. *Biochem. Pharmacol.* 1999, 58, 1775—1780.
  25. Lehr, C. M. Bioadhesion Technologies for the Delivery of Peptide and Protein Drugs to the Gastrointestinal Tract. *Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst.* 1994, 11, 119—160.
  26. Mizuma, T.; Sakai, N.; Awazu, S. Na<sup>+</sup>-Dependent Transport of Amino-peptidase-Resistant Sugar-Coupled Tripeptides in Rat Intestine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994, 203, 1412—1416.
  27. Haga, M.; Saito, K.; Shimaya, T.; Maezawa, Y.; Kato, Y.; Kim, S. W. Hypoglycemic Effect of Intestinally Administered Monosaccharide-Modified Insulin Derivatives in Rats. *Chem. Pharm. Bull.* 1990, 38, 1983—1986.
  28. Gan, L.-S. L.; Thakker, D. R. Applications of the Caco-2 Model in the Design and Development of Orally Active Drugs; Elucidation of Biochemical and Physical Barriers Posed by the Intestinal Epithelium. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1997, 23, 77—98.
  29. Sayani, A. P.; Chien, Y. W. Systemic Delivery of Peptides and Proteins across Absorptive Mucosa. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 1996, 13, 85—184.
  30. Junginger, H. E. Bioadhesive Polymer Systems for Peptide Delivery. *Acta Pharm. Technol.* 1990, 36, 110—126.
  31. Fix, J. A. Oral Controlled Release Technology for Peptides; Status and Future Prospects. *Pharm. Res.* 1996, 13, 1760—1764.
  32. Bernkop-Schnurch, A.; Pasta, M. Intestinal Peptide and Protein Delivery; Novel Bioadhesive Drug-Carrier Matrix Shielding from Enzymatic Attack. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 430—434.
  33. Su, K. S. E. Nasal Route Delivery of Peptide and Protein Drug Delivery. *Peptide and Protein Drug Delivery*; Lee, V. H. L., Ed.; Marcel Dekker, Inc. : New York, Chap. 13.
  34. Sarkar, M. A. Drug Metabolism in the Nasal Mucosa. *Pharm. Res.* 1992, 9, 1—9.
  35. Kissel, T.; Werner, U. Nasal Delivery of Peptides; An in Vitro Cell Culture Model for the Investigation of Transport and Metabolism in Human Nasal Epithelium. *J. Controlled Release* 1998, 53, 195—203.
  36. Watanabe, Y.; Mizufune, Y.; Utoguchi, N.; Endo, K.; Matsumoto, M. Studies of Drug Delivery Systems for a Therapeutic Agent Used in Osteoporosis. II. Enhanced Absorption of Elcatonin from Nasal Mucosa in Rabbits. *Biol. Pharm. Bull.* 1998, 21, 1191—1194.
  37. Merkle, H. P.; Wolany, G. J. M. Intraoral Peptide Absorption. *Biological Barriers to Protein Delivery*; Audus, K. L., Raub, T. J., Eds.; Plenum Press; New York, 1993; 131—160.
  38. Garren, K. W.; Repta, A. J. Buccal Absorption. III. Simultaneous Diffusion and Metabolism of an Amino-peptidase Substrate in the Hamster Cheek Pouch. *Pharm. Res.* 1989, 6, 966—970.

39. Li, C.; Bhatt, P. P.; Johnston, T. P. Transmucosal Delivery of Oxytocin to Rabbits Using a Mucoadhesive Buccal Patch. *Pharm. Dev. Technol.* 1997, 2, 265—274.
40. Nakane, S.; Kakumoto, M.; Yukimatsu, H.; Chien, Y. W. Oramucosal Delivery of LHRH: Pharmacokinetic Studies of Controlled and Enhanced Transmucosal Permeation. *Pharm. Dev. Technol.* 1996, 1, 251—259.
41. Krishnamoorthy, R.; Mitra, A. K. Ocular Delivery of Peptides and Proteins. *Ophthalmic Drug Delivery Systems*; Mitra, A. K., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993, 455—469.
42. Chiou, G. C. Systemic Delivery of Polypeptide Drugs Through Ocular Route. *J. Ocul. Pharmacol.* 1994, 10, 93—99.
43. Lee, V. H. L. Precorneal, Corneal, and Postcorneal Factors. *Ophthalmic Drug Delivery Systems*; Mitra, A. K., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993, 59—81.
44. Chiou, G. C.; Shen, Z. F.; Zheng, Y. Q. Adjustment of Blood Sugar Levels with Insulin and Glucagon Eyedrops in Normal and Diabetic Rabbits. *J. Ocul. Pharmacol.* 1990, 6, 233—241.
45. Muranishi, S.; Yamamoto, A.; Okada, H. Rectal and Vaginal Absorption of Peptides and Proteins. *Biological Barriers to Protein Delivery*; Audus, K. L., Raub, T. J., Eds.; Plenum Press: New York, 1993, 199—227.
46. Lee, V. H. L.; Yamamoto, A. Presentation and Enzymatic Barriers to Peptide and Protein Absorption. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1990, 4, 171—207.
47. Golomb, G.; Avramoff, A.; Hoffman, A. A New Route of Drug Administration: Intrauterine Delivery of Insulin and Calcitonin. *Pharm. Res.* 1993, 10, 828—833.
48. Bonucci, E.; Ballanti, P.; Ramires, P. A.; Richardson, J. L.; Benedetti, L. M. Prevention of Ovariectomy Osteopenia in Rats After Vaginal Administration of Hyaff 11 Microspheres Containing Salmon Calcitonin. *Calcif. Tissue Int.* 1995, 56, 272—279.
49. Johnson, L. G.; Boucher, R. C. Macromolecular Transport Across Nasal and Respiratory Epithelia. *Biological Barriers to Protein Delivery*; Audus, K. L., Raub, T. J., Eds.; Plenum Press: New York, 1993, 161—178.
50. Yu, J.; Chien, Y. W. Pulmonary Drug Delivery: Physiologic and Mechanistic Aspects. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 1997, 14, 395—453.
51. Smith, P. L. Peptide Delivery Via the Pulmonary Route: A Valid Approach for Local and Systemic Delivery. *J. Control. Release* 1997, 46, 99—106.
52. Patton, J. S.; Bukar, J.; Nagarajan, S. Inhaled Insulin. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1999, 35, 235—247.
53. Deftos, L. J.; Nolan, J. J.; Seely, B. L.; Clopton, P. L.; Cote, G. J.; Whitham, C. L.; Florek, L. J.; Christensen, T. A.; Hill, M. R. Intrapulmonary Drug Delivery of Salmon Calcitonin. *Calcif. Tissue Int.* 1997, 61, 345—347.
54. Banga, A. K.; Chien, Y. W. Dermal Absorption of Peptides and Proteins. *Biological Barriers to Protein Delivery*; Audus, K. L., Raub, T. J., Eds.; Plenum Press: New York, 1993, 179—197.
55. Merkle, H. P. Transdermal Delivery Systems. *Methods Funds Exp. Clinical Pharmacol.* 1989, 11, 135—153.
56. Green, P. G. Iontophoretic Delivery of Peptide Drugs. *J. Controlled Release* 1996, 41, 33—48.
57. Singh, P.; Maibach, H. I. Iontophoresis in Drug Delivery: Basic Principles and Applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 1994, 11, 161—213.
58. Mitragotn, S.; Blankschtein, D.; Langer, R. Ultrasound-Mediated Transdermal Protein Delivery. *Science*; Wash, DC, 1995; 269, 850—853.
59. McDermott, M. T.; Kidd, G. S. The Role of Calcitonin in the Development and Treatment of Osteoporosis. *Endocr. Rev.* 1987, 8, 377—390.
60. Patel, S.; Lyons, A. R.; Hosking, D. J. Drugs Used in the Treatment of Metabolic Bone Diseases. *Drugs* 1993, 46, 594—617.
61. Stevenson, J. C.; Evans, I. M. Pharmacology and Therapeutic Use of Calcitonin. *Drugs* 1981, 21, 257—272.
62. Reginster, J. Y.; Jeugmans-Huynen, A. M.; Sarlet, N.; McIntyre, H. D.; Franchimont, P. The Effect of Nasal hCT on Bone Turnover in Paget's Disease of Bone—Implications for the Treatment of Other Metabolic Bone Diseases. *Br. J. Rheumatol.* 1992, 31, 35—39.
63. Schneyer, C. R. Calcitonin and the Treatment of Osteoporosis. *MD Med. J.* 1991, 40, 469—473.
64. Sinko, P. J.; Hu, P.; Wagner, E.; Sturmer, A.; Gilligan, J. P.; Stern, W. Determination of the Intestinal Permeability of Recombinant Salmon Calcitonin. *Pharm. Res.* 1993, 10, (suppl.) S293.
65. Yu, H.; Jiang, F.; Stern, W.; Sinko, P. J. Intestinal Binding and Degradation of Recombinant Salmon Calcitonin. *Pharm. Res.* 1994, 11, (suppl.) S254.
66. Heintz, M. L.; Flanigan, E.; Orlowski, R. C.; Regnier, F. E. Correlation of Calcitonin Structure with Chromatographic Retention in High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 1988, 443, 229—245.
67. Singer, F.; Habener, J. F.; Greene, E.; Godin, P.; Pottisjun, J. T. Inactivation of Calcitonin by Specific Or-

- gans. *Nature New Biology* 1972, 237, 269–270.
68. Satoh, T.; Yoshida, G.; Orito, Y.; Koike, T. Drug Delivery System for the Treatment of Osteoporosis. *Nippon Rinsho* 1998, 65, 742–747.
  69. Humphrey, M. J. The Oral Bioavailability of Peptides and Related Drugs. *Delivery Systems for Peptide Drugs*; Davis, S. S., Illum, L., Thomlinson, E., Eds.; Plenum Press; New York, 1986; 139–151.
  70. LeCluyse, E. L.; Sutton, S. C. In Vitro Models for Selection of Development Candidates. *Permeability Studies to Define Mechanisms of Absorption Enhancement*. *Adv. Drug Delivery. Rev.* 1997, 23, 163–183.
  71. Sinko, P. J.; Lee, Y. H.; Makhey, V.; Leesman, G. D.; Sutyak, J. P.; Yu, H.; Perry, B.; Smith, C. T.; Hu, P.; Wagner, E. J.; Falzone, L. M.; McWhorter, L. T.; Gilligan, J. P.; Stern, W. Biopharmaceutical Approaches for Developing and Assessing Oral Peptide Delivery Strategies and Systems: In Vitro Permeability and in Vivo Oral Absorption of Salmon Calcitonin (sCT). *Pharm. Res.* 1999, 16, 527–533.
  72. Lee, V. H. L. Enzymatic Barriers to Peptide and Protein Absorption. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Sys.* 1988, 5, 69–97.
  73. Bai, J. P. F.; Amidon, G. L. Degradation of Insulin by Trypsin and  $\alpha$ -Chymotrypsin. *Pharm. Res.* 1992, 9, 969–978.
  74. Yamamoto, A.; Taniguchi, T.; Rikyu, K.; Tsuji, T.; Fujita, T.; Murakami, M.; Muranishi, J. Effects of Various Protease Inhibitors on the Intestinal Absorption and Degradation of Insulin in Rats. *Pharm. Res.* 1994, 11, 1496–1500.
  75. Tozaki, H.; Emi, Y.; Horisaka, E.; Fujita, T.; Yamamoto, A.; Muranishi, S. Degradation of Insulin and Calcitonin and Their Protection by Various Protease Inhibitors in Rat Cecal Contents; Implications in Peptide Delivery to the Colon. *J. Pharm. Pharmacol.* 1997, 49, 164–168.
  76. Luessen, H. L.; Verhoef, J. C.; Borchard, G.; Lehr, C. M.; de Boer, A. G.; Junginger, H. E. Mucoadhesive Polymers in Peroral Peptide Drug Delivery. II. Carboxy and Polycarboxylic are Potent Inhibitors of the Intestinal Proteolytic Enzyme Trypsin. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1293–1298.
  77. Lee, Y. H.; Perry, B. A.; Labruno, S.; Lee, H. S.; Stern, W.; Falzone, L. M.; Sinko, P. J. Impact of Regional Intestinal pH Modulation on Absorption of Peptide Drugs; Oral Absorption Studies of Salmon Calcitonin in Beagle Dogs. *Pharm. Res.* 1999, 16, 1233–1239.
  78. Legg, E. F.; Spencer, A. M. Studies on the Stability of Pancreatic Enzymes in Duodenal Fluid to Storage Temperature and pH. *Clin. Chim. Acta* 1975, 65, 175–179.
  79. Jensen-Pippen, K. E.; Whitcomb, K. L.; DePrince, R. B.; Ralph, L.; Habberfield, A. D. Enteral Bioactivity of Human Granulocyte Colony Stimulating Factor Conjugated with Poly (ethylene Glycol). *Pharm. Res.* 1996, 13, 102–107.
  80. Sakuma, S.; Sudo, R.; Suzuki, N.; Kikuchi, H.; Akashi, M.; Hayashi, M. Mucoadhesion of Polystyrene Nanoparticles Having Surface Hydrophilic Polymeric Chains in the Gastrointestinal Tract. *Int. J. Pharm.* 1999, 177, 161–172.
  81. Serres, A.; Baudys, M.; Kim, S. W. Temperature and pH-Sensitive Polymers for Human Calcitonin Delivery. *Pharm. Res.* 1996, 13, 196–201.
  82. Scott-Moncrieff, J. C.; Shao, Z.; Mitra, A. K. Enhancement of Intestinal Insulin Absorption by Bile Salt-Fatty Acid Mixed Micelles in Dogs. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83, 1465–1469.
  83. Kimura, T.; Sato, K.; Sugimoto, K.; Tao, R.; Murakami, T.; Kurosaki, Y.; Nakayama, T. Oral Administration of Insulin As Poly (vinyl Alcohol) -Gel Spheres in Diabetic Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 1996, 19, 897–900.
  84. Bai, J. P.; Chang, L. L.; Guo, J. H. Targeting of Peptide and Protein Drugs to Specific Sites in the Oral Route. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 1995, 12, 339–371.
  85. Tozaki, H.; Emi, Y.; Horisaka, E.; Fujita, T.; Yamamoto, A.; Muranishi, S. Metabolism of Peptide Drugs by the Microorganisms in Rat Cecal Contents. *Biol. Pharm. Bull.* 1995, 18, 929–931.
  86. Saffran, M.; Kumar, G. S.; Savariar, C.; Burnham, J. C.; Williams, F.; Neckers, D. C. A New Approach to the Oral Administration of Insulin and Other Peptide Drugs. *Science Wash* 1986, 233, 1081–1084.
  87. Mersny, R. N. The Colon As a Site for Drug Delivery. *J. Controlled Release* 1992, 22, 15–34.
  88. Lee, Y. H.; Perry, B. A.; Sutyak, J. P.; Stern, W.; Sinko, P. J. Regional Differences in Intestinal Spreading and pH Recovery on the Effectiveness of Pharmaceutical Excipients and the Impact on Salmon Calcitonin Absorption in Beagle Dogs. *Pharm. Res.* 2000, 17, 284–290.
  89. Hovgaard, L.; Mack, E. J.; Kim, S. W. Insulin Stabilization and GI Absorption. *J. Controlled Release* 1992, 19, 99–108.
  90. Merkle, H. P. New Aspects of Pharmaceutical Dosage

D

Forms for Controlled Drug Delivery of Peptides and Proteins. Eur. J. Pharm. Sci. 1994, 2, 19-21.

91. Senel, F. M.; Yildirim, S.; Karakayali, H.; Moray, G.; Haberal, M. Comparison of Neoral and Sandimmune for Induction and Maintenance Immunosuppression After

Kidney Transplantation. Transpl. Int. 1997, 10, 357-361.

(陈 芳 译)



# 多肽和蛋白质的经皮吸收

Richard H. Guy

M. Begoña Delgado-Charro

Diego Marro

Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Enseignement, Archamps, France

University of Geneva, Switzerland

## 意义和原理

未来几年,越来越多的多肽和蛋白质将进入治疗领域。逐渐成熟的生物技术行业已经取得了很多进展,不仅使得蛋白质和多肽药物成为现实,而且首次能够大量生产高纯度的蛋白质和多肽。对于目前这些治疗药物唯一有效的给药途径——注射给药,若能克服它的局限性,将大大促进这类药物的应用。对于药剂学工作者,成功设计此类复杂的生物大分子药物的其他给药途径的剂型是一个具有挑战性的目标。

多肽蛋白质药物的非注射给药途径包括鼻腔、口腔、透皮、口腔黏膜、眼、直肠和阴道给药<sup>[1~3]</sup>。总的来说,与注射给药相比,这些途径的主要优点在于非侵入性,给药比较方便。毫无疑问,这些途径比起注射给药(不论是静脉注射、肌内注射还是皮下注射),药效较差,生物利用度低。

透皮给药作为多肽蛋白质给药途径已经引起广泛的兴趣,其主要优点有:①避免了肝首过效应和在胃肠道中的失活,这对于易代谢的药物来说尤为重要;②能够以恒定速率长时间给药,特别适合于慢性疾病;③副作用小,血药峰浓度低;④使用方便,能实现自主给药,患者顺应性好;⑤通过从皮肤上简单地摘除,可随时终止给药<sup>[3]</sup>。

由于相对其他组织来说,皮肤蛋白水解活性低,因此,皮肤内在的通透性较差是影响蛋白质透皮给药的主要限制因素<sup>[1]</sup>。通常来说,蛋白质和多肽药物是极性大分子药物,其皮肤通透性很差,因此必须使用合适的促渗手段(如我们即将提到的)。本章将介绍几种促进多肽蛋白质透皮吸收的方法,包括使用化学促渗剂、离子导入法、应用瞬时的高压脉冲(电致孔)、超声波法及各种所谓的微损伤技术。

## 皮肤的屏障功能

### 1. 角质层和被动渗透途径

皮肤显著的屏障作用主要体现在角质层(SC),它在表皮中最薄,处于最外层<sup>[4]</sup>。角质层是由多层充满蛋白质的角质细胞构成,角质细胞插入细胞外脂质骨架中。长链共价结合的神经酰胺通过与细胞外的脂质作用黏附在外层角

质细胞膜上。脂质主要由游离脂肪酸、神经酰胺和胆固醇组成,排列成多层结构<sup>[5]</sup>。跨过角质层的被动渗透主要通过细胞间脂质路径进行[图1(a)]。胞间脂质组成了穿过角质层的唯一连续相<sup>[6]</sup>。水在角质层中渗透的温度依赖性<sup>[7]</sup>以及水分转运和胞间脂质混乱度的显著相关性<sup>[4]</sup>都证明了这一推断。另外,一些使用各种示踪原子的显像技术已经被用来直接观测通过胞间途径的渗透<sup>[6,8]</sup>。且角质层的屏障功能在整个皮肤厚度上相当均一<sup>[9]</sup>。另外一个潜在途径是通过毛囊和皮脂腺等附属器的转运,这些结构在角质层的连续相中形成了“支路”。人们已经用各种方法来实现通过皮肤附属器的被动扩散和经皮吸收(如离子导入法)<sup>[6,10]</sup>。一开始药物首先通过该途径被吸收,但是由于其面积相对于整个皮肤表面来说是很小的,所以当经皮扩散达到稳态时,它对整个的转运贡献是很小的<sup>[10,11]</sup>。还有一个路径是穿过角质层细胞[图1(c)]。尽管表面积大、跨膜路径短(与细胞间路径比较),但是目前却没有证据来支持这一途径的分子渗透,相反,一些研究者已经证明了此方法的不可行性<sup>[8,12]</sup>。

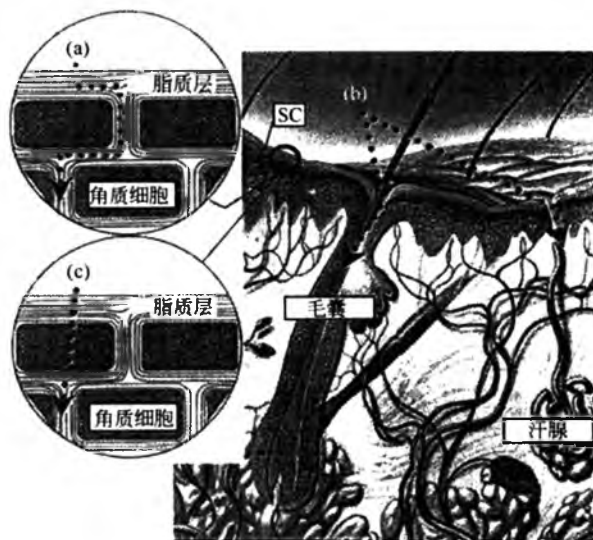


图1 角质层的被动渗透途径。(a) 细胞间脂质路径;  
(b) 附属器转运;(c) 跨角质细胞路径

### 2. 结构与渗透性的关系: 蛋白质吸收的应用

大部分透皮转运的结构和渗透性的关系表明化学药物

的渗透系数 ( $K_p$ ) 和亲脂性有很大关系<sup>[13~15]</sup>。Potts 和 Guy<sup>[14]</sup>分析了由 91 种化合物构成的透皮数据库<sup>[15]</sup>, 得出一个简单的关系, 即  $K_p$  只与亲脂性有关, 可通过化合物的油水分配系数 ( $P$ ) 和相对分子质量 ( $M_w$ ) 计算:

$$\log K_p (\text{cm/s}) = -6.3 + 0.71 \log P - 0.0061 M_w$$

然而, 对于高亲脂性化合物, 这个公式要修正<sup>[16]</sup>, 才能解释这些物质的转运不是受角质层的扩散限制, 而是受从角质层分配到其下的亲水活性表皮层的限制。极性化合物包括多肽、蛋白质, 在较大的 pH 范围内带一个甚至多个电荷,  $\log P$  值很小, 因此  $K_p$  也很小, 若没有适当的促渗技术, 则透皮给药在治疗上是无效的。总之, 必须强调, 不论用什么方法来增强透皮转运, 透皮给药途径对高效化合物 (如多肽) 来说仍是有用的。

## 促进多肽和蛋白质经皮吸收的措施

### 1. 被动转运和化学促渗作用

普遍认为, 决定一个分子皮肤渗透性的两个最重要理

化参数是: ①亲脂性, 油-水分配系数的对数值为 2 是比较适合的; ②相对分子质量, 小分子化合物比大分子易渗透<sup>[14]</sup>。由于多肽蛋白质极性很强 (带电荷)、分子质量高 ( $>1000\text{Da}$ ), 所以被动透皮转运效率很低, 皮肤透过量小, 治疗效果差。

因此, 人们已经考虑使用多种皮肤促渗剂来增强多肽的透皮。这些载体包括常用的化学促渗剂或多种合用的多肽代谢抑制剂或胶粒 (主要是脂质体) 表 1 对现有文献做了总结。在说明某些例子之前, 要注意的是虽然可以促进多肽的转运, 但是, 人们很少关注这些促渗剂的皮肤效应 (如刺激性、长期的耐受性), 也没有关注使用了可疑的动物模型的事实 (有毛小鼠剃毛后, 不用促渗剂, 其皮肤渗透性比人体皮肤还要高)。为了阐明使用一些促渗剂在实验和实际应用上的差别, 可以参考含 40% 乙醇和 50% 二甲亚砜的奥曲肽<sup>[17]</sup>, 以及含各种化学促渗剂的亮丙瑞林乙醇和水 (4:1) 溶液的例子<sup>[27]</sup>。不难预测两种方法将对人皮肤产生局部刺激性, 应限制其长期使用。

表 1 化学促渗剂和载体组成对多肽和蛋白质的经皮吸收的作用

多肽	载体	皮肤模型	评论	参考文献
<b>A. 被动+化学促渗剂</b>				
奥曲肽	40%乙醇; 1%甲氨基亚砜的 40%乙醇溶液; 50%二甲亚砜	剃毛的小鼠皮肤; 热分 离的人皮	体外实验; 临床	[17]
[NLe <sup>4</sup> , D-Phe <sup>7</sup> ] - $\alpha$ -促 黑素多肽类似物	26%聚乙二醇 400; 74%聚乙二 醇 3350	剃毛的小鼠	体内实验; 诱导卵泡的黑色素 生成	[18]
		小鼠皮肤; 大鼠皮肤	体外实验; 透过小鼠皮肤, 没 有透过大鼠皮肤	[19]
		移植的人皮	体外实验; 测定转运量	[20]
Des-脑啡肽- $\gamma$ -内啡肽 (1300Da)	氮酮; 聚乙二醇	人角质层; 去甘油化的 移植的皮肤 (荷兰烫伤 协会)	体外实验; 需要促渗剂	[21]
Leu-脑啡肽	$n$ -甲氨基亚砜 (10mmol/L) + 代谢抑制剂 (piromycin, 阿吗 他定)	裸鼠皮肤	体外实验; 研究代谢; 联合应 用抑制剂来增加转运量	[22]
加压素 (1084Da)	月桂酸硫酸钠 ( $0.9 \times 10^{-3} \sim$ $19.2 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ )	剃毛的大鼠皮肤	体外实验; pH 和多肽浓度的影 响, 未研究促渗剂作用	[23]
	氮酮 (3%~25%); 二甲亚砜; DMAC; NNDMT; 乙二醇苯 乙基醚	裸小/大鼠的体外实验; 大鼠的体内实验	氮酮的效果最好 (体内的临床 效应; 排尿量减少, 尿渗透压 升高)	[24]

续表

多肽	载体	皮肤模型	评论	参考文献
依降钙素 ([Asu <sup>17</sup> eel-降钙素) (3363Da)	卡波普凝胶+不同的促渗剂和蛋白酶抑制剂, 如胆酸盐、加贝酯、beataline、OG、OTG	剃毛的大鼠	体内实验; 蛋白酶抑制剂的影 响; 观察降血钙效应	[25]
	卡波普凝胶; 维生素 D <sub>3</sub> + 雌二 醇+OTG+aurocholate	患骨质疏松的剃毛的 大鼠	体内实验; 治疗骨质疏松的 效果	[26]
亮丙瑞林 (1209Da)	2%HPMC; 乙二醇-水 (4:1) +促渗剂; 甲醇 (1%~2%); 樟脑 (2%); 甲基水杨酸 (2%); 月桂酸 (2%); 癸酸 (2%); 20%~80%乙醇; 10%尿素	裸鼠, 移植的人皮; 蛇皮	体外实验	[27]
那法瑞林	PG, 氮酮; 甘油单油酸盐; 乙 醇; $\beta$ -环糊精	移植的人皮, 猴皮	体外实验; 80h的渗透	[28]
四肽胃泌素	PBS 溶液	剃毛的大鼠皮肤	前药途径; 母体和乙酰衍生物 的渗透	[29]
B. 被动转运+胶粒载体				
环孢菌素	O/W 乳剂脂质体	裸鼠皮肤	体外实验; 剥皮过程; 环孢菌素 累积; 大量环孢菌素透过皮肤	[30]
$\gamma$ -干扰素	脂质体	移植人皮的裸鼠皮	体外实验; 测定 ICAM-1 的 诱导	[31]
	脂质体	移植的人体皮肤	体外实验; 测定转运蛋白质的 生物活性 (10%有活性)	[32]
脑啡肽	脂质体+离子导入	人体皮肤	体外实验	[33]
酪氨酸	微乳液晶	剃毛的大鼠皮肤	体外实验	[34]

注: EtOH 代表乙醇; PEG 代表聚乙二醇; SC 代表角质层; DMAC 代表二甲乙酰胺; NNDMT 代表 *N*, *N*-二甲基-*m*-甲苯酰胺; OG 代表 *n*-辛基- $\beta$ -D-葡萄糖苷; OTG 代表 *n*-辛基- $\beta$ -D-硫糖苷; HPMC 代表羟丙甲基纤维素 PG 代表丙二醇; PBS 代表磷酸盐缓冲溶液; ICAM-1 代表细胞间黏附分子-1。

由 PEG400 和 PEG3350 (1:3) 组成的促黑色素多肽 [NLe<sup>1</sup>, D-Phe<sup>7</sup>] - $\alpha$ -促黑色素多肽类似物的透皮处方, 进行了一系列透小鼠和人皮肤的研究, 结果较温和合理并引起人们兴趣<sup>[18~20]</sup>。对剃毛小鼠进行体内实验, 可以观察到黑色素增加<sup>[18]</sup>。然而, 这些数据大多是半定量的, 因为还没测到实际透皮值, 无法与其他研究进行比较。

用剃毛的小鼠进行较高分子质量的多肽依降钙素 (3363 Da, 降钙素的类似物) 的体内实验, 可以得到阳性的药理结果<sup>[25,26]</sup>。文献报道观察到血钙降低, 同时骨质疏松有一定的改善。成功的处方含有牛磺胆酸和蛋白抑制剂, 如加贝酯和抑氨肽酶  $\beta$  素 (bestatine)。另一种方法是采用四肽胃泌素的亲脂性前药, 但这种情况下, 有人会问这种转运的改善是否值得, 由于前药带来额外的注册复杂性<sup>[29]</sup>。

近来在该领域进行最多的工作是采用胶粒载体, 特别是脂质体 (表 1)。这方面研究的综述很多<sup>[35~37]</sup>。从目前得到的资料来看, 处方中的脂质量比给药部位皮肤角质层细胞间的脂质量要高得多。这样的脂质体处方能显著地 (或

是极大的) 干扰皮肤的正常屏障功能, 这一点不令人惊讶, 特别是如果所用的外源性脂质能与内源性的脂质有效混合<sup>[30,32,38]</sup>。这也解释了用与角质层脂质成分类似的脂质混合物组成的脂质体有时是有用的。

这种脂质系统已用于多肽的局部和全身治疗。前一种情况, 如环孢菌素治疗牛皮癣的给药, 最理想的是将药物限制在皮肤中, 而使进入血液循环的药物量最少<sup>[30]</sup>。体外常规的扩散实验中, 几乎没有环孢菌素从脂质载体渗透到接收相中。然而, 这结果与含 40% 乙醇的环孢菌素对照溶液没有不同。实验结束时, 大多数的药物 (60%) 和处方中的脂质都存在于角质层。类似地, 有人很好地研究了  $\gamma$ -干扰素的人体皮肤的体外渗透实验<sup>[32]</sup>。局部应用  $\gamma$ -干扰素可治疗特异性的皮肤炎和瘢痕疙瘩性结疤。最初的研究表明  $\gamma$ -干扰素有着很短的时滞 (约 1 h), 但脂质体转运的多肽失去了大部分的生物活性<sup>[32]</sup>。接下来的一系列实验用移植人体皮肤的小鼠体内模型进行研究<sup>[31]</sup>。发现在这种情况下, 透过的  $\gamma$ -干扰素保留了生物学活性, 促进了表皮细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的增加 (图 2)。

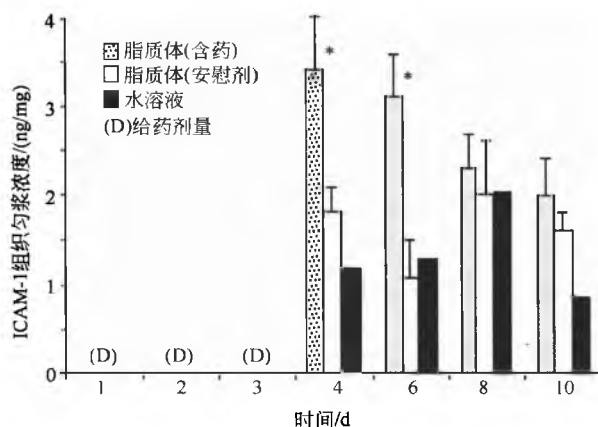


图2 在移植人体皮肤的裸鼠上局部给予 $\gamma$ -IFN后ICAM-1的产量。每天给予单剂量(100 $\mu$ L)的脂质体(20mg/mL)或水溶液(磷酸缓冲盐溶液)处方,给药3天。含药处方含0.51mg/mL $\gamma$ -IFN,对照组不含蛋白质。以\*表示两种处方的显著性差异<sup>[31]</sup>

关于脂质载体中的多肽和蛋白质的全身给药方面,Cevc等<sup>[39]</sup>研究了包封在弹性脂质体(Transfersomes<sup>TM</sup>传递体)中的胰岛素的透皮转运,它不同于传统的脂质体,因为里面加了表面活性剂(胆酸钠、十二烷基硫酸钠、胆酸盐)。健康受试者透皮(45~90cm<sup>2</sup>)给予这样的胰岛素处方,出现剂量依赖性的全身低血糖,是皮下注射相同制剂所产生效应的25%~45%。作者认为这不是含乙醇(10%)和富含表面活性剂的处方对破坏皮肤屏障完整性效应的结果,因为“刚硬”的脂质体(不含胆酸盐的乙醇脂质体)和胰岛素的混合胶粒(含有所有研究处方中最高胆酸盐浓度)不会产生明显的降血糖效应。相反,他们认为传递体的弹性是允许脂质体携带包封药物透过皮肤的决定性因素<sup>[39]</sup>。

最后,近来作为一种非侵入性方法将蛋白质局部用于完整皮肤已用于免疫和疫苗接种。当霍乱毒素(86kDa)局部用于剃毛的、预先水化的小鼠皮肤上,霍乱毒素能诱导产生大量的抗体<sup>[40]</sup>。霍乱毒素作为免疫佐剂,能增强弱抗原的免疫应答,如白喉毒素和破伤风毒素合用于皮肤给药<sup>[40]</sup>。随后的报道也证明了一些细菌产物也能产生免疫增强作用,但比起霍乱毒素毒性和副作用小<sup>[41]</sup>。包封在脂质载体中的大蛋白如间隙连接蛋白,在小鼠中也能得到透皮免疫性<sup>[42,43]</sup>。一种更复杂的技术,即编码抗原的质粒透皮传递技术,将在此章后讨论,这种技术能诱导体内抗原蛋白的产生。在发展中国家,由于缺乏训练有素、能够准确重复注射的医务人员,而限制了预防性的医疗保健。因此,发展非侵入性、给药方便的疫苗,对于发展中国家实现群体免疫具有很大的意义。

## 2. 离子导入技术

离子导入技术是一种非侵入性的技术,用弱电流(<0.5 mA/cm<sup>2</sup>)将药物离子导入皮肤(图3)。生物药物的

极性和所带电荷使该类药物非常适合采用电控透皮转运<sup>[44,45]</sup>。离子导入技术的人体研究已经证明了多肽能安全、有效、可重复地进入全身循环。值得关注的多肽离子导入技术所取得的最新进展有:①能较快达到稳态的血药浓度,并保持较长时间,直到停止电流;②能通过调节电流模式,改变药物转运模式,程序化实现更复杂的给药。另外,目前正在为至少两种非肽类药物设计小巧、易携带的、整合的离子导入装置,已进入Ⅲ期开发阶段。

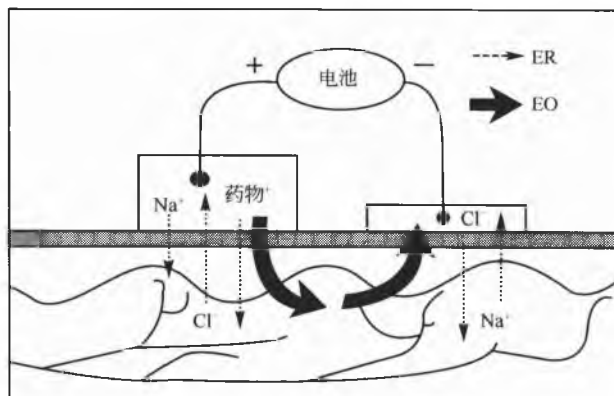


图3 离子导入技术的示意图。两个电极分别连于电源并与皮肤接触。施加电场后药物离子从相同极性的电极排出(阳离子从阳极排出)。电脉冲(ER)也导致阳极处方中其他阴离子向内转移和皮肤内阴离子(Cl<sup>-</sup>)的向外排出。在非工作电极(阴极),阴离子从电解质进入皮肤,阳离子(Na<sup>+</sup>)从组织中排出。图中还显示了电渗流(EO)的方向

离子导入技术通过两种主要机制来增强药物在皮肤的渗透:电脉冲和电渗析<sup>[46]</sup>(图4)。电脉冲是直接将在带电药物上产生的效应。实际上,这种方法是指,如带正电的药物在正极,在电场作用下被排斥,并穿过皮肤。因此药物离子实际上在电路中作为电荷的载体。然而,即使是大分子肽类药物所带的电荷,在电源的总电荷中占的比例也很小。这可能是因为在处方中存在竞争性的阳离子(如缓冲盐、电解质),同时皮肤上也存在竞争性的阴离子(特别是氯离子),携带大量电荷流向阳极(图3)。因此我们必须优化处方来减少竞争离子的存在,特别是从皮肤表面进入体内的方向上。电渗析作用基于皮肤在生理pH下是带负电的<sup>[47,48]</sup>(皮肤的pI为4.5~5<sup>[47]</sup>)。在带电膜上施加电势梯度,就会产生反方向的溶剂流(如在皮肤上从阳极到阴极)。溶剂流增强了阳离子药物的经皮渗透,也增强了极性很大的电中性药物的经皮渗透,却削弱了阴离子的电迁移(图4)。

电脉冲和电渗析的相对重要性是目前的研究热点<sup>[49~58]</sup>。一般认为,小分子和流动性强的离子(如钠离子、氯离子、带电荷的氨基酸)主要是靠电脉冲,而带少量电荷的大量物质只能靠电渗析透过皮肤(图5)。随着阳离子分子质量的增加,皮肤透过机制将会发生从电脉冲到电渗析的转变<sup>[50]</sup>(然而何时发生转变还未最终确定);对阴离子来说,随着分子质量的增加,很明显,电脉冲作用

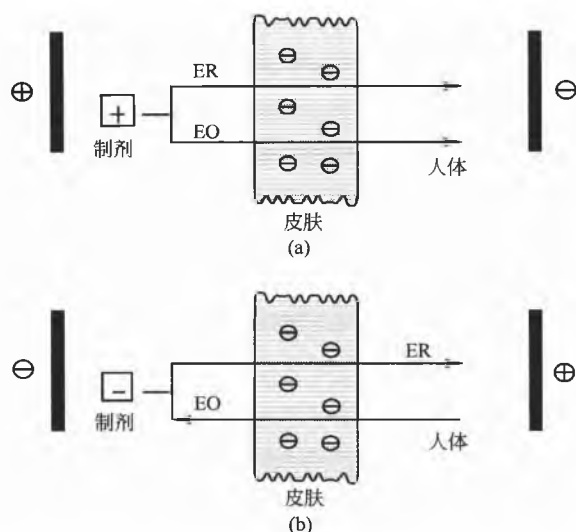


图4 在带电膜上施加电势梯度产生与离子运动方向相反的溶剂流（如在皮肤上从阳极到阴极）。电渗析作用（EO）联合电脉冲作用（ER）将增强阳离子在离子导入中的转运（a），而减弱阴离子的电迁移（b）

将被反方向的电渗析作用抵消（因而胰岛素不能采用离子导入技术，下面将有解释）。值得注意的是在一些例子中，亲脂性的阳离子（包括一些多肽；如 LHRH 类似物那法瑞林和亮丙瑞林）能和亲脂性皮肤的净负电荷强烈作用，从而中和皮肤表面的负电，减少其渗透选择性，关闭电渗析。这也是此类药物转运的主要机理<sup>[52~54,58,59]</sup>。

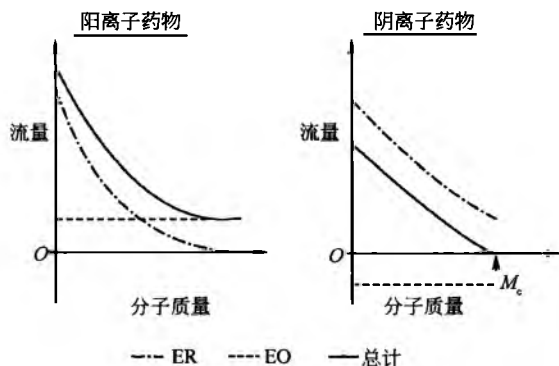


图5 在阳离子和阴离子的离子导入中，分子大小对电渗析和电脉冲的相对重要性的影响。分子小、流动性强的阳离子主要通过电脉冲通过皮肤，但随着分子变大、阳离子药物所带电荷的减少，电渗析成为主要的转运机制。对阴离子，电渗对总流量起相反作用，当相对分子质量达到临界值  $M_c$  时电脉冲作用消失，就没有净流量

影响多肽和蛋白质离子导入的因素如下：

**电荷和 pH:** 如上所述，阳离子因同时存在电脉冲和电渗析作用，皮肤的透过效率要强于阴离子，电中性药物若适当地置于阳极也能增强透过性。带电量增多并不一定会导致透过性增强（其他参数保持不变），主要是因为与皮肤表面的作用增强了，电渗析作用减弱<sup>[48]</sup>。可以通过调节

pH 来改善蛋白质的稳定性，有时能增强透过（因为蛋白质能从两性离子转成阳离子）。然而，pH 也不能大范围改变，一是要考虑到刺激性；二是可能改变皮肤的固有电荷，进而改变其透过选择性。

**分子大小:** 显而易见，小的带电分子要比大分子容易通透（图 5）。分子大小与通透性的绝对关系很复杂，也很难推导。对只靠电渗析作用转运的分子来说，透过性与分子大小无关（假定药物分子的大小不超过路径大小）。几乎没有研究来讨论蛋白质和多肽这方面的问题，只有一项针对聚-L-赖氨酸的研究清晰表明 4kDa 的寡聚物要比高分子质量（7kDa 和 26kDa）的容易转运<sup>[59]</sup>。

**处方组成:** 离子导入技术的基本原理与蛋白质和多肽特别相关。若要透过带一定量电荷的药物，则降低处方中的竞争性电荷就有意义。总的来说，降低电解质量也意味着电渗析作用增强<sup>[49,60]</sup>，但维持稳定性却需要至少存在一定量的电解质和（或）缓冲溶液，所以，聚合物的缓冲液不一定会竞争带电，可以用于促进多肽的透过<sup>[61]</sup>。离子导入装置中多肽储存的稳定性问题也有报道<sup>[44,62]</sup>。因为供离子导入的处方是用水凝胶，可能存在水解的问题。这个问题已经解决了，最近，人们将降钙素制成干的储库型圆盘用于离子导入（通过压制冻干的多肽和凝胶混合物），使用时再加水<sup>[62]</sup>。这种想法已经在家兔的低血钙反应中得到证明<sup>[62]</sup>。处方中另一个重要的组分是电极，一般采用可逆电极，特别是 Ag/AgCl 电极<sup>[63]</sup>。该电极的稳定性和重现性很适合离子导入法，避免了裸露的金属电极（如铂电极）的固有问题（特别是，水的电解能导致电极处方中 pH 的显著变化，需要加入强的缓冲液）<sup>[64~67]</sup>。使用 Ag/AgCl 电极对多肽蛋白质的潜在问题是药物可能在 AgCl 的表面失活/降解<sup>[52,68]</sup>，因此需要设计一装置来使药物远离电极（如使用半透膜和盐桥）<sup>[52,68~70]</sup>。

现在，我们能总结多肽蛋白质应用离子导入技术这一领域的基本进展。

首先，我们考虑不同动物模型体内实验的结果。有人使用离子导入将三肽 Thr-Lys-Pro 导入剃毛的小鼠中<sup>[71]</sup>，测得的该多肽表观肾排泄速率与体外所测的流量完全一致。对大鼠皮肤进行离子导入预处理后再将该多肽被动扩散，透过作用也会增强。大鼠通电后，没有观察到组织的变化，只是在电极下的皮肤有点红肿。家兔体内实验中，在应用弱电流（50~150  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ）后，奥曲肽（生长抑素的类似物）的透过速率显著提高<sup>[72]</sup>。提高电流强度，能成比例地增大多肽的血浆浓度，中止电流，药物浓度立刻下降。另外，降钙素的透皮研究中，发现血浆中钙含量的降低与电流强度和通电时间不是成正比<sup>[73]</sup>。进行了 LHRH（黄体生成素释放激素）的离子导入猪体内实验<sup>[74]</sup>，发现随着血液中 LHRH 浓度升高，LH（黄体酮）和 FSH（卵巢刺激激素）浓度也升高，表明激素是作为有药理活性的物质进入皮肤，一旦停止离子导入，药物浓度立刻下降。对一个相对分子质量较大的多肽——生长激素释放因子 GRF（ $M_w = 5040$ ），进行无毛豚鼠的离子导入实验，观测到稳态

的血浆浓度（约为 0.2 ng/mL），表明皮肤透过率为  $3.16 \mu\text{g}/\text{h}^{[75]}$ 。

其次，我们简要检索了关于人体中多肽蛋白质离子导入透皮的文献。发现降钙素基因偶联蛋白（CGRP）和血管活性肠肽（VIP）在治疗静脉溃疡时有效<sup>[76]</sup>。在 66 名患者中，将  $40\text{cm}^2$  的离子导入贴片置于溃疡附近的完整皮肤上，施加脉冲电流 20min。由临床结果可以发现，CGRP 和 VIP 的透皮量增加，而且溃疡附近的电流对愈合也有促进作用。亮丙瑞林（LHRH 的类似物）的离子导入也进行了人体实验<sup>[77,78]</sup>，实验显示，离子导入后 LH 水平的升高与皮下注射相似<sup>[77]</sup>，考虑到电流强度较低 [ $0.2\text{mA}$  应用在  $70\text{cm}^2$  上（约  $3.1 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ）]，这个结果是相当显著的。在通电过程中，只有 2/13 的受试者有刺痛感（断电后，症状很快消失），6/13 的受试者在电极部位有红斑。在健康受试者的进一步报道中，研究了改变处方对醋酸亮丙瑞林离子导入的影响。醋酸亮丙瑞林浓度最低时皮肤透过率最高（图 6）。改变处方中的离子强度对醋酸亮丙瑞林比对 LH 和睾酮的影响大，这也可由药理作用的个体间差异部分解释。

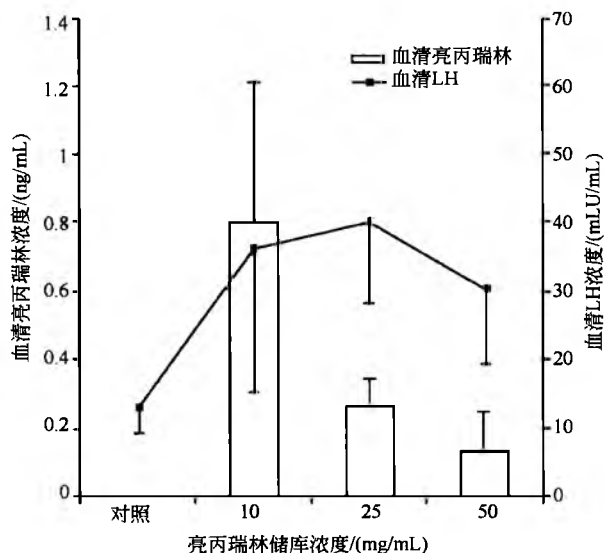


图 6 健康受试者离子导入药物后，血清中亮丙瑞林和 LH 的浓度与药物储库浓度的关系<sup>[78]</sup>。应用直流电（0.2mA）10~12 h

最后，我们介绍投入大量研究的胰岛素给药。由于胰岛素需要在饭后突释，因此很难应用离子导入技术。该方法可能用于模拟生理条件下非糖尿病患者几乎恒定的激素分泌（1 IU/h）（如周期性皮下注射无法满足要求）<sup>[79]</sup>。最近，一篇优秀的综述总结认为胰岛素离子导入（几乎全是动物模型）足以治疗小的糖尿病动物，但是，离人体基础的胰岛素分泌还有 1~2 个数量级的差距<sup>[80]</sup>。因此，在未来几年内，我们不太可能看到胰岛素的离子导入系统推向市场。

### 3. 电致孔法

人们已经用另一种方法，将高压电脉冲施于皮肤来增加多肽的透皮转运（即电致孔法）。过去几年已经有了不少

有关这方面研究的综述发表<sup>[81~85]</sup>。与离子导入技术长时间（数十分钟至数小时）地使用小电流（ $0.5\text{mA}/\text{cm}^2$ ）不同，它是将皮肤短时间地暴露于高压电流（30~100 V）中，一般是数百毫秒<sup>[85~87]</sup>。

从原理上说，电致孔也是不同于离子导入的技术，它的一个重要作用是在角质层中生成新的低阻力通道。详细地讨论电致孔对皮肤阻力的影响不在本章范围，读者可以参阅相关文献<sup>[84,86,88]</sup>。

用电致孔法增强多肽蛋白质皮肤透过的最系统的研究是 LHRH<sup>[89,90]</sup>，与离子导入技术相比，电致孔诱导快速透过的能力已有详细证明<sup>[89]</sup>。在人体皮肤的体外实验中，应用单个电致孔脉冲 5 ms 后，再经普通电流的离子导入 30min，这比起单独应用离子导入能诱导更多的 LHRH 渗透（图 7）<sup>[89]</sup>。这就如同快速静脉注射后再辅以滴注药物。在复杂的离体模型（离体的灌注猪皮）中，再次研究了用电致孔法进行 LHRH 的每隔 1s 的脉冲输入<sup>[90]</sup>。

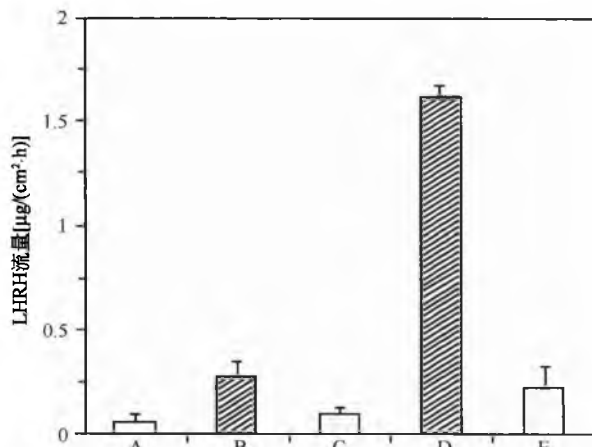


图 7 LHRH 在人表皮的体外透皮实验（平均值±SD）<sup>[89]</sup>。

A. 被动流量；B.  $0.5\text{mA}/\text{cm}^2$  离子导入 30min；D. 电致孔脉冲（1000V，5ms）后， $0.5\text{mA}/\text{cm}^2$  离子导入 30min；C 和 E. 终止 B 和 D 后 2h 的流量

最近，有两个实验验证了运用电致孔增加环孢菌素的透皮来治疗牛皮癣<sup>[91,92]</sup>。与被动扩散相比，根据使用的载体，单次的电致孔脉冲能产生多达 60 倍的裸鼠皮肤透过。

然而，必须说明的是电致孔的实际应用问题是限制其发展的重要因素。采用高压就带来了安全性问题，以及实际中如何操作，是否只能在医院或是医生办公室使用？电致孔对皮肤的影响如何？在一定短期范围内，结果是谨慎乐观的，但长期如何，没有人确定。从市场角度看，电致孔会被归为“最小侵入性”的给药技术，能有效地除去角质层对透皮的阻碍作用。在这种情况下，电致孔技术能与其他如微针和无痛注射竞争吗？简而言之，要使电致孔技术成为简单注射的主要挑战者还有一段很长的路要走。

### 4. 超声促渗

使用超声增加透皮吸收（称为超声促渗）已经研究多

年,它基于超声传播和超声对组织的影响。超声在经皮系统中应用已有详细的综述。<sup>[93-96]</sup>,可能的机制包括空化、热效应及机械扰动角质层,也就是说,超声波作用于膜的屏障功能<sup>[96]</sup>。

超声波法分为三类:高频或诊断超声波(2~10MHz)、中频或治疗超声波(0.7~3MHz)和低频超声波(5~100kHz)。总结文献看,以超声介导的药物传递效率取决于几个因素,包括频率、强度(单位面积的功率)、连续/脉冲模式、循环次数、时间间隔、晶联介质等。几乎没有研究为这些参数制定通用值,这也导致了结果存在差异,甚至矛盾。

应注意超声波束由两部分构成:靠近变频器的区域和远离区域(最后分散的锥体部分)<sup>[93]</sup>。这两个区域的相对大小及间隔与波长、变频器半径有关。能量在两个区域分布不均一,靠近变频器的区域更复杂,因此实验方案中的微小变化会导致很不同的结果。

从实际来看,与离子导入不同,超声装置从实验室规模到小的、使用方便的装置的转变是个“缩小规模”的问题。如上所述,超声是对皮肤屏障起作用(而离子导入更多的是作用于药物分子)。因此,长期安全高效地应用该方法的关键是对此促渗技术的控制。

在超声法促进多肽蛋白质的吸收方面,最重要的结果发现在低频区。Tachibana等首先报道了在裸鼠<sup>[97]</sup>和家兔<sup>[98]</sup>的体内实验中,胰岛素的透皮增强。在105kHz下使用超声波(90min,脉冲:5s开,5s关),可观察到患糖尿病的家兔,胰岛素透过增强,血糖水平降低(图8)<sup>[98]</sup>。在低频(48kHz)下,在裸鼠中可观察到类似的葡萄糖水平降低<sup>[97]</sup>。随后 Mitragotri等在裸鼠实验中得到类似结果,其中,频率20kHz,持续时间4h,强度12.5~225mW/cm<sup>2</sup>,脉冲100ms(后来,强度被修正到1.6~14W/cm<sup>2</sup><sup>[100]</sup>)。作者同时也报道了低频的超声大大增强了 $\gamma$ -干扰素( $M_w=17$ kDa)和促红细胞生成素EPO( $M_w=48$ kDa)的体外透皮作用,即更大的大分子能穿透皮肤。然而,自从1995年发表这个结果后,再没有这些蛋白质进一步数据的报道<sup>[99]</sup>。

另外的研究涉及低频超声作用的机制。人们提出并在一定程度上证明了空化和热效应,但需要进一步阐明超声是如何与皮肤作用来提高通透性的<sup>[101-104]</sup>。

目前只有一篇文章提出数据来证明高频(1MHz)超声能用来增强多肽在皮肤的透过<sup>[105]</sup>。已报道了聚-L-赖氨酸( $M_w=4$ kDa)在人体皮肤的透过增强,但这一发现与在这一频率下超声对一些分子物质的经皮渗透有相对温和的作用完全不一致<sup>[96]</sup>。

最后,在项相关的研究中, Lee等用印相操作波增强一种用于光动力学治疗的 $\delta$ -氨基酸——氨基乙酰丙酸(ALA)的皮肤透过<sup>[106]</sup>。宽频、压缩的波能特别地通过机械力作用于组织。ALA的转运与光波的峰压(388~503bar)成正比。

总之,尽管低频超声促渗已经产生了可喜的结果,但

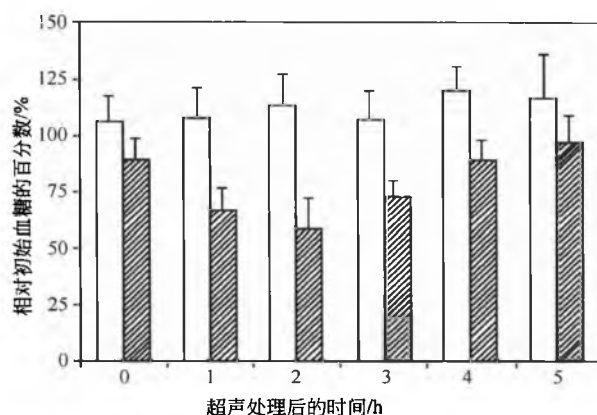


图8 对四氧嘧啶-糖尿病的家兔以超声波导入胰岛素后的血糖水平的变化<sup>[98]</sup>。实心柱表示在超声1.5h后的血糖浓度的相对值(平均值±SD)。暴露的皮肤面积为7cm<sup>2</sup>,超声频率为105kHz。空心柱表示相应的对照组

是仍然存在一些问题,如机制、局部皮肤效应、耐受性、可逆性和最终的可行性等。在从研究转到开发之前这些问题必须解决。

## 5. 基因和DNA在皮肤的传递

基因治疗的目的在于在某些方面改变靶细胞的合成能力和细胞数,在体内引发所需的“治疗效应”<sup>[107]</sup>。虽然概念吸引人,但由于在基因传递上存在一些问题,基因治疗受到限制。如基因怎样到达靶部位来产生治疗效果、如何调节引进基因的表达。

传递基因至皮肤或透过皮肤有三种基本目的<sup>[108]</sup>:治疗皮肤疾病和伤口;诱导皮肤细胞编码蛋白质,进而以一定速度释放入血液循环;免疫治疗。前两个目的用于长期治疗,而免疫治疗只需瞬间接触相关的DNA。

长期治疗至少理论上可通过离体和体内试验实现。以前的方法是,从活体皮肤获得细胞,体外培养。在体外环境中进行基因转导(如电致孔),然后将转染的细胞植入宿主<sup>[108]</sup>。显然这是劳动强度很大、复杂、昂贵的技术。体内实验中,用病毒或非病毒载体(如腺病毒、疱疹病毒、DNA脂质体)直接将基因材料应用到完整皮肤。另外,可采用许多物理的方法来研究DNA转运进入皮肤,包括直接注射(裸露DNA和结合不同载体的质粒)、粒子轰击(基因枪)、超声、电致孔和其他低侵入性技术<sup>[108-110]</sup>。然而体内直接的基因转导,虽然概念诱人,技术上也易实现,但目前已被证明是低效的,只能产生低的、暂时的基因表达<sup>[108]</sup>。

DNA免疫治疗包括在质粒中编码抗原,然后转染到体内细胞中,产生抗原的表达,接着诱导被表达蛋白质的免疫反应<sup>[111]</sup>。当体内“自然”产生蛋白抗原时,就产生了细胞和体液应答。皮肤被认为是很好的免疫反应部位,一些皮肤细胞参与DNA摄取、抗原表达。例如,最近报道了在小鼠模型中局部应用裸露DNA水溶液产生了免疫反应<sup>[112]</sup>。



## D

人们已经了解到皮肤对大分子的被动透过能力弱,很明显,只有一小部分 DNA 疫苗可以用于免疫治疗。

总之,基因治疗领域虽然引起了人们广泛的关注,但是真正在皮肤水平上取得的成功仍很少(而不是在各种模型上取得进展),还有很多工作要做。一些皮肤基因治疗的最新的详细报道可以在相关文献中查阅<sup>[108,111]</sup>。

## 6. 低侵入性的转运技术

最后,我们研究物理绕过角质层屏障来转运多肽和蛋白质,这些方法比起传统的针和注射器侵入性要小。人们已将注意力转移到如何以尽可能小的侵入方式绕过这层膜。利用这种思路进行多肽转运已有一段历史了。秘鲁的 Matse 印第安人在打猎活动中就应用了这种方法<sup>[113]</sup>。获得南美树蛙皮肤的提取物后(含有 7wt%<sup>①</sup>的活性蛋白),用燃烧的枝条破坏表皮屏障,将制备好的处方涂抹在皮肤上,几分钟后先是观察到强的外周、胃肠道和心血管反应,接着是强烈的中枢神经反应(体力增强,增强抵抗饥饿、口渴、压力等的能力)。

回到知识产权和专利保护的世界,近年来许多复杂的技术也应用于多肽和蛋白质给药。我们可以用激光辐射、加热、溶蚀,以及使用粒子轰击、各种形态微针的方法来破坏角质层。这些技术也可以与离子导入等其他透皮技术联合应用。但是,这些用来传递多肽蛋白质的方法还未在临床上得到证明,也未显示明显地优于传统的针和注射途径。Down 等撰写了这方面的很好的综述<sup>[114]</sup>。

中红外激光烧蚀角质层已用于  $\gamma$ -干扰素的经皮转运<sup>[115]</sup>。这种激光束破坏角质层的机制虽然复杂,但可以重现并可控,因为激光脉冲的数目与角质层的损伤程度有关系(因此也和蛋白质对组织的穿透能力有关)。角质层以下组织损伤很小。

MicroPors™ 技术<sup>[114,116]</sup>直接将热能聚焦到角质层上,形成微孔。皮肤与电网接触,通电后,造成局部过热,在皮肤屏障上形成小孔。有人建议采用这种方法来传递胰岛素<sup>[116]</sup>。在角质层造成溶蚀的更普遍方法是通过去表皮作用<sup>[117]</sup>。用真空在皮肤上形成小泡(直径 6mm),同时表皮和真皮在连接处分离,当气泡的顶端被移除后(截断),暴露出真皮,药物溶液就能直接进入。用抗利尿剂 1-脱氨基-8-D-精氨酸后叶加压素(dDAVP)可以证明人体实验的可行性。在实验中,很快达到稳定的治疗水平的血浆浓度<sup>[117]</sup>。用同样方法可成功传递缩宫素类似物<sup>[118]</sup>。作者强调溶蚀后真皮层的微循环仍是完整的,功能仍存在。可观察到轻微的炎症,但经过一段时间,溶蚀恢复,几乎没有结疤。但是实际中应用此方法,特别是作为慢性疾病的治疗,似乎并不现实,不得不考虑局部感染的问题。

高速粒子透皮给药是一项主要基于英国和美国的给药技术<sup>[119]</sup>。药物先制成适当的粉末,注入手持的压缩装置中,超声速气流加速粒子使其有足够的能量穿过皮肤外层,

达到传递药物的目的。药物穿透的深度和程度取决于药物微粒的速度、直径和密度。胰岛素再次成为这种方法对多肽药物的研究对象<sup>[120]</sup>。

最后,由于对微机械、微加工研究的兴趣,人们已经将注意力转移到微米级的微针阵列的生产,它能在角质层形成转运通路,同时不会引起患者的疼痛感<sup>[121,122]</sup>。目前已经开发了各种形态的微针,主要是有个尖端,长度约 100 $\mu$ m。到目前,还没有应用于蛋白质多肽给药的微针技术出现。

总之,低侵入性技术是一个活跃的充满想象力和前途的领域。但是随着这项技术的成熟,真正用于临床研究时与现有的方法相比,是否目前的激动和投资能因产品的成功上市而得到回报,我们还需拭目以待。

## 结论

经皮给药系统具有非侵入性的特点,并能避免进入全身循环前的代谢,模拟注射给药的特点(至少在某种程度上)。因此,我们都在努力探索多肽蛋白质的经皮给药。如前所述,经皮给药,无论有无使用促渗技术,都只限于药效强的药物。这再次解释了为何要努力开发多肽蛋白质的经皮给药(特别是活性很高的药物)。

经皮给药中,最简单的结构和渗透性关系表明:分子越大,药物穿过皮肤的能力越弱。因此,大分子药物不适于经皮给药系统,除非是药效非常强。疫苗就是其中一个例子,在皮肤充当免疫器官的条件下,疫苗得以有机会用于经皮给药途径。而对于其他多肽蛋白质,必须用促渗技术来克服皮肤的屏障功能。

各种方法已经产生了某些效果,从而增加了多肽蛋白质的转运。然而,除了离子导入技术外,没有方法已经达到成熟的阶段。即便是离子导入技术有很多的文献报道,也还没有出现多肽的给药系统(虽然已有“普通”的药物正处于研发的后期)。在过去 20 年的生物药研究领域,新技术包括低侵入性技术(例如,那些我们所知甚少的,相关问题很难解决的,甚至还未定性的)正引起人们广泛关注和大规模的投资。

是否经皮给药能最终成为一个或多个多肽蛋白质的可上市给药系统,我们将拭目以待。我们要做更多的工作来证明促渗技术(如超声促渗、电致孔法和各种低侵入性技术)优于针和注射器。对于离子导入技术,大部分基础工作已经完成,基本原理很清晰,现在要做的是选取适当的多肽来开发。疫苗给药是个很有前景的令人感兴趣的领域,时间将证明是否经皮给药途径能实现这个重要的目标。

## 参考文献

1. Audus, K. L.; Raub, T. J. Biological Barriers to Protein

① wt%为非法定使用方法,译者为了遵从原著,仍沿用这一用法。



- Delivery. *Pharmaceutical Biotechnology*; Plenum Press: New York, 1993; 4.
2. Wearley, L. L.; Banga, A. K. Peptide and Protein Drug Delivery. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995; 11, 395—411.
3. Hadgraft, J.; Guy, R. H. *Transdermal Drug Delivery—Development Issues and Research Initiatives*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 35.
4. Potts, R. O.; Francoeur, M. L. The Influence of Stratum Corneum Morphology on Water Permeability. *J. Invest. Dermatol.* 1991, 96, 495—499.
5. Wertz, P. W. The Nature of the Epidermal Barrier: Biochemical Aspects. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1996, 18, 283—294.
6. Turner, N. G.; Nonato, L. B. Visualization of Stratum Corneum and Transdermal Permeation Pathways. *Mechanisms of Transdermal Drug Delivery*; Potts, R. O., Guy, R. H., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 83, 1—40.
7. Potts, R. O.; Francoeur, M. L. Lipid Biophysics of Water Loss Through the Skin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990, 87, 3871—3873.
8. Boddé, H. E.; Van den Brink, I.; Koerten, H. K.; Haan, F. H. N. Visualization of In Vitro Percutaneous Penetration of Mercuric Chloride; Transport Through Intercellular Space Versus Uptake Through Desmosomes. *J. Controlled Release* 1991, 15, 227—236.
9. Kalia, Y. N.; Pirot, F.; Guy, R. H. Homogeneous Transport in a Heterogeneous Membrane: Water Diffusion Across Human Stratum Corneum in Vivo. *Biophys. J.* 1996, 71, 2692—2700.
10. Grimnes, S. Pathways of Ionic Flow Through Human Skin in Vivo. *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)* 1984, 64, 93—98.
11. Keister, J. C.; Kasting, G. B. The Use of Transient Diffusion to Investigate Transport Pathways Through Skin. *J. Controlled Release* 1986, 4, 111—117.
12. Alberty, W. J.; Hadgraft, J. Percutaneous Absorption: In Vivo Experiments. *J. Pharm. Pharmacol.* 1979, 31, 140—147.
13. El Tayar, N.; Tsai, R. S.; Testa, B.; Carrupt, P. A.; Hansch, C.; Leo, A. Percutaneous Penetration of Drugs: A Quantitative Structure-Permeability Relationship Study. *J. Pharm. Sci.* 1991, 80, 744—749.
14. Potts, R. O.; Guy, R. H. Predicting Skin Permeability. *Pharm. Res.* 1992, 9, 663—669.
15. Flynn, G. L. Physicochemical Determinants of Skin Absorption. *Principles of Route-to-Route Extrapolation for Risk Assessment*; Gerrity, T. R., Henry, C. J. Eds.; Elsevier: New York, 1990; 93—127.
16. Cleek, R. L.; Bunge, A. L. A New Method for Estimating Dermal Absorption from Chemical Exposure. I. General Approach. *Pharm. Res.* 1993, 10, 497—506.
17. Weber, C. J.; Jicha, D.; Matz, S.; Siverly, J.; O'Dorisio, T.; Strausberg, L.; Laurencot, J.; McLarty, A.; Norton, J.; Kazim, M.; Reemtsma, K. Passage of Somatostatin Analogue Across Human and Mouse Skin. *Surgery* 1987, 102, 974—981.
18. Hadley, M. E.; Wood, S. H.; Lemus-Wilson, A. M.; Dawson, B. V.; Levine, N.; Dorr, R. T.; Hruby, V. J. Topical Application of a Melanotropic Peptide Induces Systemic Follicular Melanogenesis. *Life Sciences* 1987, 40, 1889—1895.
19. Dawson, B. V.; Hadley, M. E.; Kreutzfeld, K.; Dorr, R. T.; Hruby, V. J.; Al-Obeidi, F.; Don, S. Transdermal Delivery of a Melanotropic Peptide Hormone Analogue. *Life Sciences* 1988, 43, 1111—1117.
20. Dawson, B. V.; Hadley, M. E.; Levine, N.; Kreutzfeld, K. L.; Don, S.; Eytan, T.; Hruby, V. J. In Vitro Transdermal Delivery of a Melanotropic Peptide Through Human Skin. *J. Invest. Dermatol.* 1990, 94, 432—435.
21. Boddé, H. E.; Verhoef, J. C.; Ponc, M. Transdermal Peptide Delivery. *Biochem. Soc. Trans.* 1989, 17, 943—945.
22. Choi, H. K.; Flynn, G. L.; Amidon, G. L. Transdermal Delivery of Bioactive Peptides: The Effect of *n*-Decylmethyl Sulfoxide, pH, and Inhibitors on Enkephalin Metabolism and Transport. *Pharm. Res.* 1990, 7, 1099—1106.
23. Banarjee, P. S.; Ritschel, W. A. Transdermal Permeation of Vasopressin. I. Influence of pH, Concentration, Shaving and Surfactant on In Vitro Permeation. *Int. J. Pharm.* 1989, 49, 189—197.
24. Banarjee, P. S.; Ritschel, W. A. Transdermal Permeation of Vasopressin. II. Influence of Azone on In Vitro and In Vivo Permeation. *Int. J. Pharm.* 1989, 49, 199—204.
25. Ogiso, T.; Iwaki, M.; Yoneda, I.; Horinouchi, M.; Yamashita, K. Percutaneous Absorption of Elcatonin and Hypocalcemic Effect in Rat. *Chem. Pharm. Bull.* 1991, 39, 449—453.
26. Ogiso, T.; Iwaki, M.; Tanino, T.; Paku, T. Effectiveness of the Elcatonin Transdermal System for the Treatment of Osteoporosis and the Effect of the Combination of Elcatonin and Active Vitamin  $D_3$  In Rat. *Biol. Pharm. Bull.* 1993, 16, 895—898.

27. Lu, M. F.; Lee, D.; Rao, G. S. Percutaneous Absorption Enhancement of Leuprolide. *Pharm. Res.* 1992, 9, 1575—1579.
28. Roy, S. D.; de Groot, J. S. Percutaneous Absorption of Nafarelin Acetate, an LHRH Analog, Through Human Cadaver Skin and Monkey Skin. *Int. J. Pharm.* 1994, 110, 137—145.
29. Setoh, K.; Murakami, M.; Araki, N.; Fujita, R.; Yamamoto, A.; Muranishi, S. Improvement of Transdermal Delivery of Tetragestrin by Lipophilic Modification with Fatty Acids. *J. Pharm. Pharmacol* 1995, 47, 808—811.
30. Egbaria, K.; Ramachandran, C.; Weiner, N. Topical Delivery of Ciclosporin: Evaluation of Various Formulations Using In Vitro Diffusion Studies in Hairless Mouse Skin. *Skin Pharmacol.* 1990, 3, 21—28.
31. Short, S. M.; Paasch, B. D.; Turner, J. H.; Weiner, N.; Daugherty, A. L.; Mrsny, R. J. Percutaneous Absorption of Biologically-Active Interferon-Gamma in a Human Skin Graft-Nude Mouse Model. *Pharm. Res.* 1996, 13, 1020—1027.
32. Short, M. S.; Rubas, W.; Paasch, B. D.; Mrsny, R. J. Transport of Biologically Active Interferon-Gamma Across Human Skin In Vitro. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1140—1145.
33. Vutla, N. B.; Betageri, G. V.; Banga, A. K. Transdermal Iontophoretic Delivery of Enkephalin Formulated in Liposomes. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85, 5—8.
34. Février, F.; Bobin, M. F.; Lafforgue, C.; Martini, M. C. Advances in Microemulsions and Transepidermal Penetration of Tyrosine. *S. T. P. Pharma. Sci.* 1991, 1, 60—63.
35. Rolland, A.; Pharmaceutical Particulate Carriers; Therapeutic Applications; Rolland, A., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 367—421.
36. Schreier, H.; Bouwstra, J. Liposomes and Niosomes as Topical Drug Carriers, Dermal and Transdermal Drug Delivery. *J. Controlled Release* 1994, 30, 1—15.
37. Cevc, G.; Blume, G.; Schätzlein, A.; Gebauer, D.; Paul, A. The Skin: A Pathway for Systemic Treatment with Patches and Lipid-Based Agent Carriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1996, 18, 349—378.
38. Weiner, N.; Williams, N.; Birch, G.; Ramachandran, C.; Shipman, C., Jr.; Flynn, G. Topical Delivery of Liposomally Encapsulated Interferon Evaluated in a Cutaneous Herpes Guinea Pig Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989, 33, 1217—1221.
39. Cevc, G.; Gebauer, D.; Stieber, J.; Schätzlein, A.; Blume, G. Ultraflexible Vesicles, Transfersomes, Have an Extremely Low Pore Penetration Resistance and Transport Therapeutic Amounts of Insulin Across the Intact Mammalian Skin. *Biochim. Biophys. Acta* 1998, 1368, 201—215.
40. Glenn, G. M.; Rao, M.; Matyas, G. R.; Alving, C. R. Skin Immunization Made Possible by Cholera Toxin. *Nature* 1998, 391, 851.
41. Scharton-Kersten, T.; Yu, J. M.; Vassell, R.; O'Hagan, D.; Alving, C. R.; Glenn, G. M. Transcutaneous Immunization with Bacterial ADP-Ribosylating Exotoxins, Subunits, and Unrelated Adjuvants. *Infect. Immun.* 2000, 68, 5306—5313.
42. Paul, A.; Cevc, G.; Bachhawat, B. K. Transdermal Immunization with Large Proteins by Means of Ultradeformable Drug Carriers. *Eur. J. Immunol.* 1995, 25, 3521—3524.
43. Paul, A.; Cevc, G.; Bachhawat, B. K. Transdermal Immunisation with an Integral Membrane Component, Gap Junction Protein, by Means of Ultradeformable Drug Carriers, Transfersomes. *Vaccine* 1998, 16, 188—195.
44. Green, P. G. Iontophoretic Delivery of Peptide Drugs. *J. Controlled Release* 1996, 41, 33—48.
45. Delgado-Charro, M. B.; Guy, R. H. Iontophoresis of Peptides. *Electronically Controlled Drug Delivery*; Berner, B., Dinh, S. M., Eds.; CRC Press: Boca Raton, 1998; 129—157.
46. Kim, A.; Green, P. G.; Rao, G.; Guy, R. H. Convective Solvent Flow Across the Skin During Iontophoresis. *Pharm. Res.* 1993, 10, 1315—1320.
47. Marro, D.; Guy, R. H.; Delgado-Charro, M. B. Characterization of the Iontophoretic Perselectivity Properties of Human and Pig Skin. *J. Controlled Release* 2000, 70, 213—217.
48. Burnette, R. R.; Ongpipattanakul, B. Characterization of the Permselective Properties of Excised Human Skin During Iontophoresis. *J. Pharm. Sci.* 1987, 76, 765—773.
49. Pikal, M. J. The Role of Electroosmotic Flow in Transdermal Iontophoresis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1992, 9, 201—237.
50. Guy, R. H.; Kalia, Y. N.; Delgado-Charro, M. B.; Merino, V.; López, A.; Marro, D. Iontophoresis; Electrorepulsion and Electroosmosis. *J. Controlled Release* 2000, 64, 129—132.
51. Delgado-Charro, M. B.; Kalia, Y. N.; Guy, R. H. The Relative Contributions of Electrorepulsion and Electroosmosis to Iontophoretic Transport. *Proc. Int. Symp. Controlled Rel. Bioact. Mater.* 1998, 25, 599—600.
52. Delgado-Charro, M. B.; Guy, R. H. Characterization of

- Convective Solvent Flow During Iontophoresis. *Pharm. Res.* 1994, 11, 929—935.
53. Hoogstraate, A. J.; Srinivasan, V.; Sims, S. M.; Higu-chi, W. I. Iontophoretic Enhancement of Peptides: Behaviour of Leuprolide Versus Model Permeants. *J. Controlled Release* 1994, 31, 41—47.
  54. Hirvonen, J.; Kalia, Y. N.; Guy, R. H. Transdermal Delivery of Peptides by Iontophoresis. *Nature Biotech.* 1996, 14, 1710—1713.
  55. Green, P. G.; Hinz, R. S.; Cullander, C.; Yamane, G.; Guy, R. H. Iontophoretic Delivery of Amino Acids and Amino Acid Derivatives Across the Skin "In Vitro". *Pharm. Res.* 1991, 8, 1113—1120.
  56. Green, P. G.; Hinz, R. S.; Kim, A.; Szoka, F. C.; Guy, R. H. Iontophoretic Delivery of a Series of Tripeptides Across the Skin In-Vitro. *Pharm. Res.* 1991, 8, 1121—1127.
  57. Del Terzo, S.; Behl, C. R.; Nash, R. A. Iontophoretic Transport of a Homologous Series of Ionized and Nonionized Model Compounds: Influence of Hydrophobicity and Mechanistic Interpretation. *Pharm. Res.* 1989, 6, 85—90.
  58. Hirvonen, J.; Guy, R. H. Transdermal Iontophoresis: Modulation of Electroosmosis by Polypeptides. *J. Controlled Release* 1998, 50, 283—289.
  59. Turner, N. G.; Ferry, L.; Price, M.; Cullander, C.; Guy, R. H. Iontophoresis of Poly-L-Lysines: The Role of Molecular Weight. *Pharm. Res.* 1997, 14, 1322—1331.
  60. Santi, P.; Guy, R. H. Reverse Iontophoresis—Parameters Determining Electroosmotic Flow. I. PH and Ionic Strength. *J. Controlled Release* 1996, 38, 159—165.
  61. Sarpotdar, P. P.; Daniels, C. R. Use of Polymeric Buffers to Facilitate Iontophoretic Transport of Drugs. *Pharm. Res.* 1990, 7 (Suppl.), S-185.
  62. Santi, P.; Colombo, P.; Bettini, R.; Catellani, P. L.; Minutello, A.; Volpato, N. M. Drug Reservoir Composition and Transport of Salmon Calcitonin in Transdermal Iontophoresis. *Pharm. Res.* 1997, 14, 63—66.
  63. Cullander, C.; Rao, G.; Guy, R. H. Why Silver/Silver Chloride? Criteria for Iontophoresis Electrodes. Prediction of Percutaneous Penetration; Brain, K. R., James, V. J., Walters, K. A., Eds.; STS Publishing: Cardiff, U. K., 1993; 3b, 381—390.
  64. Knoblauch, P.; Moll, F. In Vitro Pulsatile and Continuous Transdermal Delivery of Buserelin by Iontophoresis. *J. Controlled Release* 1993, 26, 203—212.
  65. Gupta, S. K.; Kumar, S.; Bolton, S.; Behl, C. R.; Malick, A. W. Optimization of Iontophoretic Transdermal Delivery of a Peptide and a Non-Peptide Drug. *J. Controlled Release* 1994, 30, 253—261.
  66. Kumar, S.; Char, H.; Patel, S.; Piemontese, D.; Iqbal, K.; Malick, A. W.; Neugroschel, E.; Behl, C. R. Effect of Iontophoresis on In Vitro Skin Permeation of an Analogue of Growth Hormone Releasing Hormone Factor in the Hairless Guinea Pig Model. *J. Pharm. Sci.* 1992, 81, 635—639.
  67. Brady, A. B.; Corish, J.; Corrigan, O. I. Passive and Electrically Assisted Transdermal Delivery of Desamino-8-D-Arginine Vasopressin In Vitro from a Gel Matrix. Prediction of Percutaneous Penetration; Scott, R. C., Guy, R. H., Hadgraft, J., Boddé, H. E. Eds.; STS Publishing: Cardiff, U. K., 1991; 2, 401—409.
  68. Hager, D. F.; Mancuso, F. A.; Nazareno, J. P.; Sharkey, J. W.; Siverly, J. R. Evaluation of a Cultured Skin Equivalent as a Model Membrane for Iontophoretic Transport. *J. Controlled Release* 1994, 30, 117—123.
  69. Delgado-Charro, M. B.; Guy, R. H. Iontophoretic Delivery of Nafarelin Across the Skin. *Int. J. Pharm.* 1995, 117, 165—172.
  70. Delgado-Charro, M. B.; Rodriguez-Bayón, A. M.; Guy, R. H. Iontophoresis of Nafarelin; Effects of Current Density and Concentration on Electrotransport In Vitro. *J. Controlled Release* 1995, 35, 35—40.
  71. Green, P. G.; Shroot, B.; Bernerd, F.; Pilgrim, W. R.; Guy, R. H. In Vitro and In Vivo Iontophoresis of a Tripeptide Across Nude Rat Skin. *J. Controlled Release* 1992, 20, 209.
  72. Lau, D. T. W.; Sharkey, J. W.; Petryk, L.; Mancuso, F. A.; Yu, Z.; Tse, F. L. S. Effect of Current Magnitude and Drug Concentration on Iontophoretic Delivery of Octreotide Acetate (Sandostatin®) in the Rabbit. *Pharm. Res.* 1994, 11, 1742—1746.
  73. Thysman, S.; Hanchard, C.; Prêat, V. Human Calcitonin Delivery in Rats by Iontophoresis. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46, 725—730.
  74. Heit, M. C.; Williams, P. L.; Jayes, F. L.; Chang, S. K.; Riviere, J. E. Transdermal Iontophoretic Peptide Delivery: In Vitro and In Vivo Studies with Luteinizing Hormone Releasing Hormone. *J. Pharm. Sci.* 1993, 83, 240—243.
  75. Kumar, S.; Char, H.; Patel, S.; Piemontese, D.; Malick, A. W.; Iqbal, K.; Neugroschel, E.; Behl, C. R. In Vivo Transdermal Iontophoretic Delivery of Growth Hormone Releasing Factor GRF (1—44) in Hairless Guinea Pigs. *J. Controlled Release* 1992, 18, 213—220.
  76. Gherardini, G.; Gürlek, A.; Evans, G. R. D.; Milner,

- S. M.; Matarasso, A.; Wassler, M.; Jernbeck, J.; Lundberg, T. Venous Ulcers: Improved Healing by Iontophoretic Administration of Calcitonin Gene-Related Peptide and Vasoactive Intestinal Polypeptide. *Plast. Reconstr. Surg.* 1998, 101, 90-93.
77. Meyer, B. R.; Kreis, W.; Eschbah, J.; O'Mara, V.; Rosen, S.; Sibalis, D. Transdermal Versus Subcutaneous Leuprolide: A Comparison of Acute Pharmacodynamic Effect. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1990, 48, 340-345.
78. Lu, M. F.; Lee, D.; Carlson, R.; Rao, G. S.; Hui, H. W.; Adjei, L.; Herrin, M.; Sundberg, D.; Hsu, L. The Effects of Formulation Variables on Iontophoretic Transdermal Delivery of Leuprolide to Humans. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19, 1557-1571.
79. Guy, R. H. Current Status and Future Prospects of Transdermal Drug Delivery. *Pharm. Res.* 1996, 13, 1765-1769.
80. Sage, B. H., Jr. Insulin Iontophoresis. Protein Delivery—Physical Systems; Sanders, L. M., Hendren, R. W., Eds.; Plenum Publishing Corp.: New York, 1997; 319-341.
81. Vanbever, R.; Préat, V. In Vivo Efficacy and Safety of Skin Electroporation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 77-88.
82. Weaver, J. C.; Vaughan, T. E.; Chizmadzhev, Y. Theory of Electrical Creation of Aqueous Pathways Across Skin Transport Barriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 21-39.
83. Prausnitz, M. R. A Practical Assessment of Transdermal Drug Delivery by Skin Electroporation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 61-76.
84. Jadoul, A.; Bouwstra, J.; Préat, V. Effects of Iontophoresis and Electroporation on the Stratum Corneum: Review of the Biophysical Studies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 89-105.
85. Pliquett, U. Mechanistic Studies of Molecular Transdermal Transport Due to Skin Electroporation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 41-60.
86. Vanbever, R.; Pliquett, U. F.; Préat, V.; Weaver, J. C. Comparison of the Effects of Short, High-Voltage and Long, Medium-Voltage Pulses on Skin Electrical and Transport Properties. *J. Controlled Release* 1999, 69, 35-47.
87. Chen, T.; Segall, E. M.; Langer, R.; Weaver, J. C. Skin Electroporation: Rapid Measurements of the Transdermal Voltage and Flux of Four Fluorescent Molecules Show a Transition to Large Fluxes Near 50 V. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1368-1374.
88. Vanbever, R.; Préat, V. In Vivo Efficacy and Safety of Skin Electroporation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 77-88.
89. Bommannan, D. B.; Tamada, J.; Leung, L.; Potts, R. O. Effect of Electroporation on Transdermal Iontophoretic Delivery of Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH) in Vitro. *Pharm. Res.* 1994, 11, 1809-1814.
90. Riviere, J. E.; Monteiro-Riviere, N. A.; Rogers, R. A.; Bommannan, D.; Tamada, J. A.; Potts, R. O. Pulsatile Transdermal Delivery of LHRH Using Electroporation; Drug Delivery and Skin Toxicology. *J. Controlled Release* 1995, 36, 229-233.
91. Wang, S.; Kara, M.; Krishnan, T. R. Transdermal Delivery of Cyclosporin-A Using Electroporation. *J. Controlled Release* 1998, 50, 61-70.
92. Wang, S.; Kara, M.; Krishnan, T. R. Topical Delivery of Cyclosporin a Coevaporate Using Electroporation Technique. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23, 657-663.
93. Weiman, A. E. Physical Principles of Ultrasound. Principles and Practice of Echocardiography; Weiman, A. E. Ed.; Lea & Febiger, Philadelphia, 1994; 3-28.
94. Meidan, V. M.; Walmsley, A. D.; Irwin, W. J. Phonophoresis—Is it a Reality. *Int. J. Pharm.* 1995, 118, 129-149.
95. Camel, E. Ultrasound. Percutaneous Penetration Enhancers; Smith, E. W., Maibach, H. I. Eds.; CRC Press: Boca Raton, 1995; 369-382.
96. Mitragotri, S.; Blankschtein, D.; Langer, R. Sonophoresis; Enhanced Transdermal Drug Delivery by Application of Ultrasound. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C. Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 14, 103-122.
97. Tachibana, K.; Tachibana, S. Transdermal Delivery of Insulin by Ultrasonic Vibration. *J. Pharm. Pharmacol.* 1991, 43, 270-271.
98. Tachibana, K. Transdermal Delivery of Insulin to Alloxan-Diabetic Rabbits by Ultrasound Exposure. *Pharm. Res.* 1992, 9, 952-954.
99. Mitragotri, S.; Blankschtein, D.; Langer, R. Ultrasound-Mediated Transdermal Protein Delivery. *Science* 1995, 269, 850-853.
100. Mitragotri, S.; Farrell, J.; Tang, H.; Terahara, T.; Kost, J.; Langer, R. Determination of Threshold Energy Dose for Ultrasound-Induced Transdermal Drug Transport. *J. Controlled Release* 2000, 63, 41-52.
101. Mitragotri, S.; Edwards, D. A.; Blankschtein, D.; Langer, R. A Mechanistic Study of Ultrasonically-En-

- hanced Transdermal Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 697—706.
102. Menon, G. K.; Bommannan, D. B.; Elias, P. M. High-Frequency Sonophoresis: Permeation Pathways and Structural Basis for Enhanced Permeability. *Skin Pharmacol.* 1994, 7, 130—139.
  103. Meidan, V. M.; Docker, M.; Walmsley, A. D.; Irwin, W. J. Low Intensity Ultrasound as a Probe to Elucidate the Relative Follicular Contribution to Total Transdermal Absorption. *Pharm. Res.* 1998, 15, 85—92.
  104. Merino, G.; Delgado-Charro, M. B.; Kalia, Y. N.; Guy, R. H. Mechanism of Enhanced Transdermal Transport by Low-Frequency Ultrasound; The Role of Local Heating. *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* 2000, 27, 942—943.
  105. Weimann, L. J.; Wu, J. Enhancement of Skin Penetration of Poly-L-Lisine by Ultrasound. *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* 1999, 26, 417—418.
  106. Lee, S.; Kollias, N.; McAuliffe, D. J.; Flotte, T. J.; Doukas, A. G. Topical Drug Delivery in Humans with a Single Photomechanical Wave. *Pharm. Res.* 1999, 16, 1717—1721.
  107. Blau, H. M.; Springer, M. L. Gene Therapy—A Novel Form of Drug Delivery. *N. Engl. J. Med.* 1995, 333, 1204—1207.
  108. Khavari, P. A. Therapeutic Gene Delivery to the Skin. *Mol. Med. Today* 1997, December, 533—538.
  109. Jaroszeski, M. J.; Gilbert, R.; Nicolau, C.; Heller, R. In Vivo Gene Delivery by Electroporation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 131—137.
  110. Lin, M. T.; Pulkkinen, L.; Vitto, J.; Yoon, K. The Gene Gun: Current Applications in Cutaneous Gene Therapy. *Int. J. Dermatol.* 2000, 39, 161—176.
  111. Babiuk, S.; Baca-Estrada, M.; Babiuk, L. A.; Ewen, C.; Foldvari, M. Cutaneous Vaccination: The Skin as an Immunologically Active Tissue and the Challenge of Antigen Delivery. *J. Controlled Release* 2000, 66, 199—214.
  112. Fan, H.; Lin, Q.; Morrissey, G. R.; Khavari, P. A. Immunization Via Hair Follicles by Topical Application of Naked DNA to Normal Skin. *Nature Biotech.* 1999, 17, 870—872.
  113. Erspamer, V.; Falconieri-Erspamer, G.; Severini, C.; Potenza, R. L.; Barra, D.; Mignogna, G.; Bianchi, A. Pharmacological Studies of 'Sapo' From the Frog *Phyllomedusa Bicolor* Skin: A Drug Used by the Peruvian Matsigenka Indians in Shamanic Hunting Practices. *Toxicon* 1993, 31, 1099—1111.
  114. Down, J. A.; Harvey, N. G. Minimally Invasive Systems for Transdermal Drug Delivery. in press.
  115. Nelson, J. S.; McCullough, J. L.; Glenn, T.; Wright, W. H.; Liaw, L. L.; Jacques, S. L. Mid-Infrared Laser Ablation of Stratum Corneum Enhances In Vitro Percutaneous Transport of Drugs. *J. Invest. Dermatol.* 1991, 97, 874—879.
  116. Eppstein, J. A.; Delcher, H. K.; Hatch, M. R.; McRae, M. S.; Papp, J.; Woods, T. J. Insulin Infusion Via Thermal Micropores. *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* 2000, 27, 1010—1011.
  117. Svedman, P.; Lundin, S.; Svedman, C. Administration of Antidiuretic Peptide (DDAVP) by Way of Suction Deepithelialised Skin. *Lancet* 1991, 337, 1506—1509.
  118. Lundin, S.; Svedman, P.; Höglund, P.; Jönsson, K.; Broeders, A.; Melin, P. Absorption of an Oxytocin Antagonist (Antocin) and a Vasopressin Analogue (dDAVP) Through a Standardized Skin Erosion in Volunteers. *Pharm. Res.* 1995, 12, 2024—2029.
  119. Sarphie, D. F.; Johnson, B.; Cormier, M.; Burkoth, T. L.; Bellhouse, B. J. Bioavailability Following Transdermal Powdered Delivery (TPD) of Radiolabeled Insulin to Hairless Guinea Pigs. *J. Controlled Release* 1997, 47, 61—69.
  120. Sarphie, D. F.; Varadi, A.; Bellhouse, B. J.; Ashcroft, S. Transdermal Delivery of Powdered Bovine Insulin to Diabetic and Non-Diabetic Wistar Rats. *Diabetes* 1995, 44 (Suppl. 1), 129a.
  121. Henry, S.; McAllister, D. V.; Allen, M. G.; Prausnitz, M. R. Microfabricated Microneedles: A Novel Approach to Transdermal Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 922—925.
  122. McAllister, D. V.; Kaushik, S.; Patel, P. N.; Mayberry, J. L.; Allen, M. G.; Prausnitz, M. R. Solid and Hollow Microneedles for Transdermal Protein Delivery. *Proc. Intl. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* 1999, 26, 192—193.

(羊 译)

## D

## 多肽及蛋白质的肺部吸收

Igor Gonda

Aradigm Corporation, Hayward, California, U. S. A.

## 引言

人呼吸道为大分子药物的非侵入性给药提供了条件, 这些药物如不经注射就无法得到高效、可重现的快速药效。自 20 世纪早期以来, 已经有许多研究者尝试通过吸入胰岛素的给药方法治疗糖尿病<sup>[1]</sup>。这些方法失败了, 因为那时的气雾剂发生器(喷射雾化器和 MDI)肺部给药剂量不足、重复性差。然而, 在 20 世纪最后 30 年内, 通过吸入治疗呼吸道的疾病, 尤其是哮喘, 经历了蓬勃的发展<sup>[2]</sup>。使用低成本的手持装置, 强效药通过如定量吸入剂或干粉吸入剂的一两下喷雾即可达到给药目的, 使人们接受了气溶胶为治疗哮喘的优先给药方法。以肺部作为靶部位给药的主要优点之一是减少了这些药物的全身性副作用。不过, 在早期治疗哮喘的产品中, 也发现吸入药物的全身性吸收确实存在<sup>[3]</sup>。

生物技术革命合成了许多有治疗价值的蛋白质。然而, 大家都认为这些分子的特性要求必须注射给药。伴随着基因重组生物制品的出现, 对非侵入给药进行了深入的研究, 但取得的成就有限。早期关于多肽类如胰岛素<sup>[1]</sup>和一些蛋白质<sup>[4]</sup>的研究确实显示其能通过肺部吸收。在 1994 年 Mackay 等<sup>[5]</sup>报道了一些蛋白质和多肽在大鼠模型中通过肺、鼻腔和结肠吸收的绝对生物利用度, 并对这些研究进行了总结。这些蛋白质和多肽是人和蛙降钙素、人甲状旁腺激素及其 34 多肽片段、水蛭素以及杂合  $\alpha$ -干扰素。所有给药途径均显示生物利用度随相对分子质量增大而减小, 而经气管肺部给药产生的生物利用度比另外两种途径高。因此, 很明显蛋白质和多肽的非侵入肺部给药是可行的, 但还需要对给药效率低和重现性差的主要原因进行研究, 并予以排除。20 世纪后期工业和学术研究说明, 需要以“肺深部”为靶部位提高给药效率, 尤其是避免在口腔咽喉部复杂多变的沉积情况<sup>[6]</sup>, 而用于哮喘药呼吸道给药的传统气雾剂发生器, 其设计没有考虑这些需求。必须开发新型给药系统, 以产生具有合适的空气动力学特性的细药物颗粒, 用于具有巨大吸收表面积的呼吸道末端的给药。

## 蛋白质与多肽肺部给药的安全性

当给药与足够的安全性密切联系在一起时, 给药的满意率才有意义。在开发时期及上市以后, 哮喘药物的吸入给药途径证明其有很好的安全性。到目前为止, 吸入蛋白质和多肽类药物的经验相当有限。总之, 吸入蛋白质和多肽的肺部安全性向来是好的<sup>[7]</sup>。1993 年批准使用重组脱氧核糖核酸酶 (rhDNase) 吸入治疗肺囊纤维化, 目前大量临

床前和临床经验表明, 这是有效的<sup>[8,9]</sup>; 对吸入小分子多肽亮丙瑞林进行的广泛研究, 揭示了临床前及临床的“绝对”安全性<sup>[10]</sup>。近期伴随着多家公司对胰岛素的开发, 产生了大量的新安全性资料<sup>[11,12]</sup>。

## 呼吸道的吸收及其他清除机理

蛋白质和多肽分子呼吸道给药的吸收与其他清除机制相竞争, 当含有治疗物质的颗粒沉积于呼吸道时, 呼吸道清除含药颗粒有以下机理:

颗粒从呼吸道排出:

- 黏膜纤毛的清除;
- 吞噬细胞的吞噬;
- 吞噬颗粒的清除。

药物从颗粒释放之后(如溶出、扩散或溶蚀), 上述三个机理也能清除游离的药物, 释放的药物还有以下清除机理:

沉积于呼吸道的药物分子的清除:

- 代谢;
- 化学(非酶性的)降解;
- 在呼吸道与液体和组织成分结合;
- 淋巴吸收;
- 吸收入血。

## 1. 吸收、吞噬和黏膜纤毛的清除

这些清除途径并非均匀地分布于全肺。例如, 气体交换区域就没有黏膜纤毛的清除, 而由肺泡的巨噬细胞吞噬“外来”物质。肺泡区域比上呼吸道和支气管具有更大和更好的透过吸收环境, 在肺深部转运入血流的主要障碍是肺泡上皮细胞而非内皮细胞。位于肺泡内层的细胞大多数是 II 型的, 而大部分表面(约 95%)由 I 型细胞覆盖, 故肺泡的单层细胞类似于 I 型细胞, 因此被认为是肺吸收的主要障碍。

数位作者报道了多肽和蛋白质在肺吸收的双相性质<sup>[13,14]</sup>。有人建议, 快速吸收成分代表了通过充满水的小孔的细胞旁吸收, 而进入血液循环较慢的吸收相的起因还未能全部了解。呼吸道含有丰富的淋巴系统, 除了跨细胞吸收和细胞旁吸收转运进入血液循环外, 相当大比例的大分子首先进入淋巴系统, 然后缓慢地进入血液循环。通过在大鼠气管内给予一系列标记的葡萄糖研究了药物进入肺淋巴结与其相对分子质量的关系。结果发现增加药物血/淋巴转运比的域值介于 10~20 kDa, 与大肠类似。一些吸收促进剂能增加此比值, 说明这些物质可以用于肺部淋巴结靶向治疗的开发<sup>[15]</sup>。

清除机理的定量模型已用来更好地理解药物在肺部残留的量与持续时间的复杂动力学的相互影响(图1)<sup>[16]</sup>。如

果只有少数几种途径主导其转运,并且只有低级的房室模型分析,这一模型可明显简化<sup>[17]</sup>。

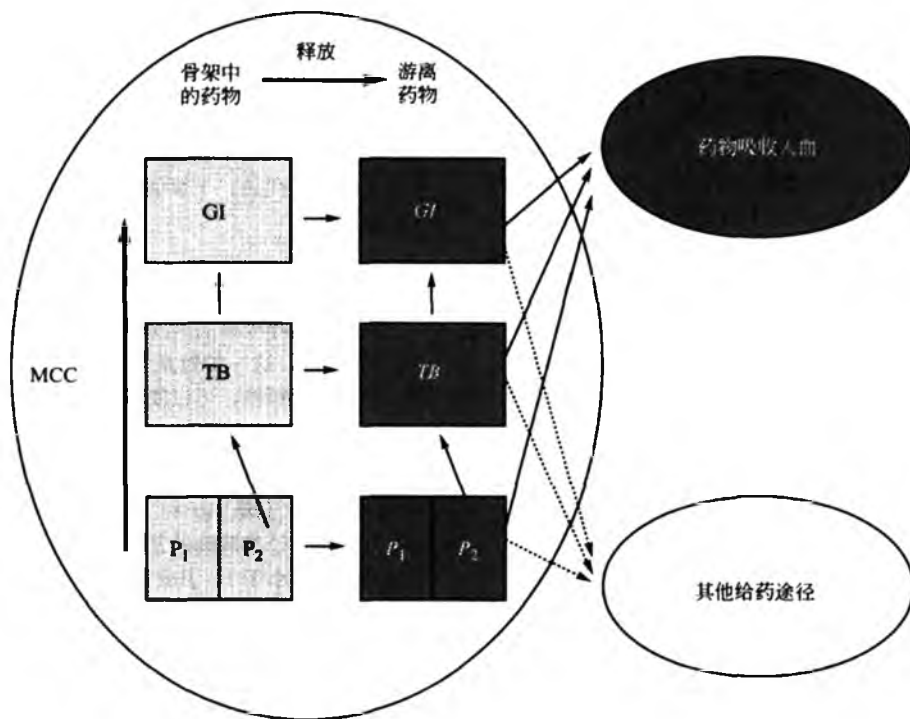


图1 载体中的吸入药物可以存在于慢清除的肺部 ( $P_1$ ), 无黏液纤毛清除或有黏液纤毛清除的快清除肺部 ( $P_2$ )、气管 (TB) 或胃肠道 (GI)。当药物释放进入这些部位时 (以斜体的字母  $P_1$ 、 $P_2$ 、TB 和 GI 表示), 可以吸收进入血液或由垂直箭头表示的物理清除如黏液纤毛清除, 也可通过化学方式和酶降解。大分子也可能在进入血液前进入淋巴<sup>[16,17]</sup>

Colthorpe 等<sup>[17]</sup>的研究表明黏膜纤毛的清除在减少胰岛素的生物利用度上起的作用最大, 至少在家兔的研究模型中如此。胰岛素在呼吸道沉积越少, 进入无纤毛的气体交换空间就越多, 其生物利用度就越高。在同样的模型中, 生长激素的肺部吸收研究得出了相似的结论<sup>[18]</sup>。已发现气雾剂给药从肺部到血液的转运速率常数比气管内给药高, 这与 Schanker's 公司的开发研究相一致<sup>[19]</sup>, 其实验显示抑制黏膜纤毛的清除导致气雾剂更快的吸收速率, 认为这与覆盖较大呼吸道表面积及进入肺外周的较好通透性相关联。这在 Niven<sup>[20]</sup>近来的工作中被证实: 他在数种动物中比较了人基因重组粒细胞集落刺激因子 (rhG-CSF) 及其 PEG 化衍生物的液体制剂滴注、粉末吹入、气雾剂给药。他们强调了对药物的吸收速率及吸收程度的影响, 药物在呼吸道的分布性质比药物的分子修饰所起作用更大。类似的实验显示了给狗用亮丙瑞林后, 其生物利用度会随离咽下的距离增大而增大<sup>[21]</sup>。Newman 等<sup>[22]</sup>比较了人志愿者吸入“粗的”和“细的”多肽分子气雾剂的生物利用度。生物利用度比值几乎与到达肺泡的药量比相同 (以体外的  $\gamma$  射线闪烁法测定)。因此蛋白质进入肺的更深处, 会有更大的和更易透过吸收的表面积, 且不会被黏膜纤毛清除, 从而产

生较好的生物利用度。

近期有关胰岛素的研究证明了肺终端给药的总体积影响该多肽的吸收动力学。当人吸入用药时, 深吸气 (接近最大肺活量) 与浅呼吸 (约为 50% 的最大肺活量) 相比, 细颗粒胰岛素气雾剂给药吸收较快, 血浆药物峰值较高<sup>[14,23]</sup>, 浅呼吸的药物动力学类似胰岛素皮下注射的吸收。这一现象的确切道理还不清楚。然而, 肺确实有前述的水性通道可以在呼吸时扩张。如果多肽或蛋白质分子的大小接近通道的直径, 可预期通道扩张会导致较快的吸收。对于超过通道直径的分子, 肺体积不影响其肺部吸收速率<sup>[24]</sup>。

## 2. 年龄、疾病和吸气对蛋白质和多肽吸收的影响

年龄对标记的三个大分子——牛 IgG (BigG,  $M_w = 150$  kDa)、牛血清白蛋白 (BSA,  $M_w = 67$  kDa) 及 1-去氨基-半胱氨酸-8-D-精氨酸抗利尿激素 (dDAVP,  $M_w = 1.067$  kDa) 肺部吸收的影响已在幼鼠及成年大鼠体内通过气管内缓慢滴注进行了研究。三个混合物的生物利用度在成年大鼠体内分别约为 1.5%、5% 和 20%。BigG 和 BSA 的低生物利用度在幼鼠中也存在, 但是 dDAVP 的吸收却显著增

加到 45%<sup>[25]</sup>。深吸气可增加胰岛素的吸收速率<sup>[26]</sup>。

在 BSA 和 dDAVP 对大鼠雾化给药的实验中<sup>[27]</sup>，急性炎症显著增大其生物利用度。

### 3. 吸收促进剂

多肽和蛋白质肺部给药吸收促进剂的使用在动物模型中已有研究，但是还没有发现其在商业上的应用。这被认为是对于这些添加剂潜在安全性的考虑。例如，Yamamoto 等<sup>[28]</sup>的研究显示杆菌多肽，尤其是 *N*-十二醇- $\beta$ -D-麦芽糖皮让酮苷 (maltopyronoside) 在大鼠模型中提高胰岛素的肺吸收，但是这些促进剂的毒性尚未进行研究。杆菌多肽“促进吸收”的机理可能是抑制酶的降解。在一个大鼠模型中也发现蛋白酶抑制剂提高降钙素类似物的肺部吸收<sup>[29]</sup>，但是其促进吸收的机理或潜在的肺毒性没有得到研究。从对上皮细胞透过障碍短暂的作用到完全除去的改变已存在于提出的促进肺吸收的机理之中。

### 4. 蛋白质和多肽的代谢

在正常人的呼吸道和肺泡中，细胞外液中的酶似乎不存在显著的蛋白水解降解，然而，多肽酶的存在使小分子多肽的吸收发生变化，且不易预测。具有一定相对分子质量的抗多肽酶的多肽通常比其他多肽显示更好的生物利用度<sup>[30]</sup>。Morimoto 等<sup>[31]</sup>的研究证明了 D 型和 L 型多肽、甘氨酸-D-苯基丙氨酸和甘氨酸-L-苯基丙氨酸的代谢及吸收是有差异的。L 型多肽易被代谢，它含有显著的细胞旁转运和较小的跨细胞膜转运；D 型多肽不被代谢，而且它只有通过细胞旁途径的被动转运。

由于清除机理的复杂性及各种不同种类动物呼吸道的解剖和生理学差异，很难准确预知蛋白质和多肽的所有吸收速率常数并不奇怪。图 2 显示了在狗、兔、大鼠和人体中表现吸收速率常数与相对分子质量的关系。通常肺吸收速率随相对分子质量增大而减少是显而易见的，在人体内大分子的真实吸收速率现在可通过直接实验来测定。

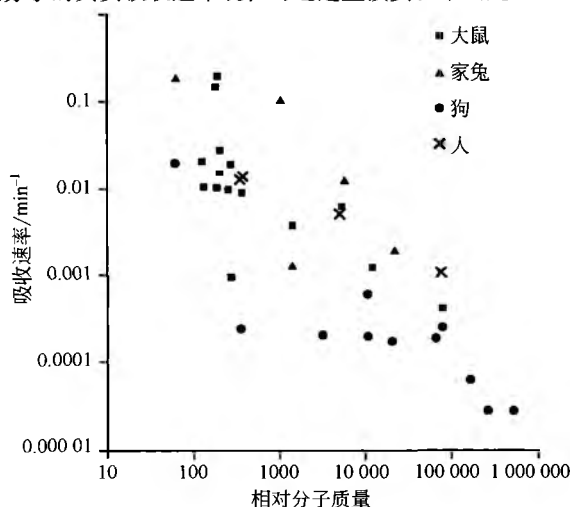


图 2 表现肺吸收速率常数与相对分子质量的关系<sup>[17,18,32~34]</sup>

## 吸入颗粒与液滴在人呼吸道中的局部沉积

既然人类的呼吸道在解剖和生理上是一个不均一的系统，大分子的吸收速率、程度及潜在的不良反应依赖于局部剂量。呼吸道最方便的给药方法是吸入。其他给药方法包括在实验的环境中使用的气管内滴注，但这通常不适用于真实的治疗产品。下面讲述颗粒吸入后测定其沉积量的基本知识。

### 1. 颗粒的空气动力学直径

颗粒在人呼吸道各部分沉积的可能性依赖于其空气动力学直径  $D_{ae}$ ，这一参数是颗粒实际大小、形状和密度的函数。对于球形颗粒，可以简单计算空气动力学直径：

$$D_{ae} = D \times \sqrt{\rho/\rho_0}$$

式中： $D$  为颗粒直径； $\rho$  为颗粒的密度； $\rho_0$  为单位密度（以前 cgs 单位中是  $1\text{g/cm}^3$ ）。对于含有稀释液的液滴，空气动力学的直径与液滴的几何学直径相同。对于多孔颗粒，其相对密度可小于 1，其几何学直径比有效的空气动力学直径大。

### 2. 沉积机理

人呼吸道中的颗粒沉积主要有三种机理：一是惰性碰撞导致颗粒按其空气动力学的直径和速度过滤。这种沉积机理在上部及中呼吸道尤其重要。在特殊情况下，口腔咽喉部沉积的增加与颗粒速度和空气动力学直径的平方成正比。因此，空气动力学直径大的颗粒，尤其是快速吸入时，将不会到达肺部而被吸收。二是重力沉降。三是扩散。它们对呼吸道和肺泡区域的颗粒沉积很重要。这两种机理的沉积程度随屏气增加。颗粒空气动力学直径约为  $0.5\mu\text{m}$  时，既不会小到因扩散而快速沉积，也不会大到因为没有延长屏气的时间而产生沉降。事实上，生产更小颗粒的含蛋白质和多肽的气雾剂相当困难。多肽或蛋白质在口咽部吸收不良，因此目标是生产缓慢移动的含有药物颗粒的气雾云，其直径范围为  $1\sim 3\mu\text{m}$ ，使口腔咽喉部的沉积最小化。的确，吸入颗粒在人呼吸道上的沉积是导致肺部给药无效和重现性不良的主要因素<sup>[6]</sup>。

### 3. 吸入模式对沉积的重要性

与口腔相比，鼻是很好的颗粒过滤器，因此首选口腔吸入，以达到更有效和可重复的肺部给药。

我们已经讨论吸气的速度对颗粒沉积的影响：药物的吸入速度越快，药物在上部与中呼吸道的弯曲和分叉处的沉积就越多，而只有较少的药物到达肺深部。吸入的气流速度可能影响到吸入系统的特性，这在呼吸能量用于药物解聚的被动干粉吸入剂中特别重要<sup>[35]</sup>。因此，对于这样的给药系统，就产生了矛盾性的需求，既需要高吸入气流速度以产生细颗粒便于肺深部的给药，又需要有充分慢的吸



入气流速度,在药物进入吸收区前避免碰撞、黏膜纤毛的消除。

同样预期,要到达肺深处,含有药物的气溶胶要在吸气开始时吸入,即从“空”肺开始,因为只有相当少的被吸入的“药团”与余下的吸入空气混合<sup>[36]</sup>。因此,推荐的方式是在一个最大呼气之后,再来一个缓慢而深的吸气,和最后一个呼吸屏住的时段。事实上,对于适当颗粒大小的药物的“肺深部”给药,用于颗粒的完全沉积时间似乎几秒就足够了。

为实现吸入治疗给药的重现性,对接受治疗的患者进行反复训练是必要的。已开发出有视觉反馈的电子系统,以协助患者正确使用药品<sup>[36~38]</sup>。

## 肺部吸收的测定

呼吸道的结构和功能不均一性,决定了只有测定了药物在呼吸道的局部沉积,肺吸收的实验结果才能推广。对于正在研究其吸收性质的药物,气管内给药有助于研究定量沉积。此技术有一些影响因素:其中有的需要外科操作(例如,手术切口暴露啮齿动物的气管,用有药的针管注射);有的利用插管或微型喷雾管插入动物的气管。然而,其药物在呼吸道各处的沉积分布范围不及吸入气雾剂的给药<sup>[17~20]</sup>。

肺细胞培养能了解其机理<sup>[39]</sup>,但是它们不能代表给药的复杂性的和药物在人呼吸道中的分布。肺器官灌注研究提供了关于其复杂性的另一层面<sup>[40]</sup>。多种不同的动物模型用于预知多肽和蛋白质在人肺部的定量吸收。然而,由于灵长类动物呼吸道在解剖和生理上的重要差异,这些模型的预测作用很有限,如图2所示(当然动物模型在评估其安全性及提供机理信息方面是必要的)。

药物连接 $\gamma$ 射线放射标志有利于局部剂量的非侵入性测定,这是在研究肺吸收机理方面广受欢迎的方法。药物可直接进行放射标记,或更常见的是放射标记与药物物理混合。从化学喷射剂量(ED)及颗粒大小分布(PSD)上证明放射标记不影响药物的性能很重要。进而,其性能、ED和PSD、体外化学含量测定和放射标记的含量测定应是一样的。这一方法能确定肺部用药的总剂量及其在呼吸道各部位的分布,可用于动物<sup>[17,18,41~42]</sup>和人<sup>[22,43]</sup>。

## 稳定性问题

关于蛋白质和多肽有效吸收的关键是在其制备、储存和雾化时,保持药物分子生化和结构的完整性。许多蛋白质和多肽水溶液制剂是稳定的,可用于注射给药。然而,雾化过程能破坏活性的分子。小微滴的生成大大增大了空气-液体界面的面积,随后可引起被动的蛋白质展开,及随后的再聚合。这对于经过多次再循环<sup>[44]</sup>的疏水性蛋白质而言,在喷射喷雾器中或喷雾干燥时尤其可能发生<sup>[45]</sup>,加入适当的表面活性剂可避免发生这种变化<sup>[42]</sup>。与可多次再循

环的喷雾器相比,挤压溶液通过细喷嘴产生喷雾的单途径系统似乎不引起蛋白质变性<sup>[46]</sup>。在温度高的喷雾干燥或在超声雾化器中溶液加热雾化的操作中,会发生蛋白质的热变性<sup>[47]</sup>。冷冻干燥注射用蛋白质的制剂是不适合吸入给药的,至少有两个理由:它们时常含有赋形剂,如柠檬酸盐,如果吸入足够量可以引起刺激;冷冻干燥形成内聚的干粉不会在吸入时分散成可吸入颗粒。喷雾干燥用于制造吸入用的蛋白质干粉<sup>[48,49]</sup>。正确选择干粉赋型剂的性质和用量是必要的,以使潜在的不良反应最小化,特别是在呼吸道有损害的患者中<sup>[50,51]</sup>。避免过高的温度和使用赋型剂——如在喷雾干燥制剂中某些糖的使用,可避免凝聚形成产生免疫原性的蛋白质及活性的丧失。制剂的性质也影响输送多肽或蛋白质颗粒的质量和物理稳定性。这些颗粒应在加药操作时流动良好,能提供高的喷射剂量,且必须分散成有合适的空气动力学直径的颗粒。因此,在生物的化学稳定性与储藏的物理稳定性——保持固态形式、避免颗粒聚合和丧失的可吸入的分散性之间取得恰当平衡需要得到重视<sup>[48,51]</sup>。

## 具体药物研究实例

### 1. 胰岛素

从近一个世纪前发现胰岛素以来,胰岛素肺部给药的全身性吸收在糖尿病的治疗中已有广泛研究<sup>[1]</sup>。Colthorpe等<sup>[17]</sup>及 Pillai等<sup>[42]</sup>分别在兔和猴模型中给予一定剂量的胰岛素,证明越是在肺的较深处,其生物利用度越高。Laube等的工作<sup>[43]</sup>表明在人体中要保证药物分子的有效吸收,必须做到在肺深处沉积。手持型液体和干粉给药系统已经开发,以生成含胰岛素的气雾剂,其绝大多数颗粒符合空气动力学要求的范围(1~3 $\mu$ m)。取决于含胰岛素的制剂形式,与胰岛素的皮下注射相比较的相对生物利用度,干粉系统约为11%<sup>[52]</sup>,基于水性液体的给药系统约为16%<sup>[53]</sup>。肺部给药后的药动学重现性和药效学参数与皮下给药相似。研究表明,吸气末肺总体积对胰岛素吸收有重要影响,与浅呼吸相比,深呼吸导致吸收显著加快<sup>[14,23]</sup>。这提示在胰岛素吸入给药时,除了吸气的气流速度和吸气的体积外,为保证窄治疗指数药物给药的有效性和重现性,可能需要控制肺总容积。

### 2. 人生长激素

Wall和Smith<sup>[54]</sup>综述了重组人生长激素(rhGH)在动物模型中肺部吸收的文献资料,发现绝对生物利用度有较大范围,为3%~36%。rhGH肺部给药的生物利用度随着药物到达肺的深度增加显著提高<sup>[18]</sup>。既然rhGH是生长因子,至少从理论上讲,其肺部给药有可能引起一些肺部组织不希望的生长。rhGH雾化给药11天,引起切除垂体(“hypox”)大鼠的身体生长,在这些动物中却没有肺的异常生长,只在肺部发现有一种轻微的免疫反应,但当雾化

## D

给药的 hGH 是牛生长激素 (bGH) 时, 其免疫反应就不存在。与 bGH 相比, bGH 含有一种与大鼠生长激素更加接近的氨基酸序列, 因而免疫反应在大鼠中不明显。有趣的是, IgG 滴度在 GH 皮下给药后比雾化吸入组高, 且在大鼠吸入治疗期间没有发现 IgE 抗体。虽然 hGH 雾化给药治疗 hypox 大鼠的身体总质量增大了, 但肺质量与身体总质量比没有改变。GH 受体在许多类型的细胞中存在, 但是在兔“雾化给药一侧”, 兔肺部没有发现 GH 受体的信息<sup>[55]</sup>。

### 3. 促黄体生成激素 (LH-RH)

对 LH-RH 类似物已有广泛研究<sup>[10]</sup>, 尤其是啡多肽性质的亮丙瑞林的开发, 其吸收显著依赖于在动物模型中药物沉积的深度: 当在 beagle 犬的气管内咽喉下 20~25cm 处给药时发现了其有实质性的吸收。亮丙瑞林乙酸酯混悬气雾剂用氯氟甲烷抛射剂制成, 没有发现此制剂对 beagle 犬的多剂量给药有不良反应。定量吸入剂在人体研究中发现的生物利用度范围为 7%~26%, 这与这种类型气雾剂系统到达肺的一般比例相同。比例吻合<sup>[56]</sup>。

### 4. 水溶性的重组白介素-4 受体

重组白介素-4 受体 (IL-4R) 曾雾化给药于灵长类动物猕猴<sup>[41]</sup>, 其血药峰浓度水平在 9.5 h 后达到, 测到的绝对生物利用度接近 30%。

### 5. 干扰素

Niven 等<sup>[13]</sup>研究了干扰素在啮齿类动物模型中的吸收。肺途径给药的绝对生物利用度接近 70%, 且证明有生物活性分子被吸收。Mackay 等<sup>[5]</sup>在大鼠中比较了杂交 BDBB  $\alpha$ -干扰素不同途径给药的绝对生物利用度, 发现结肠为 0.75%、口腔为 0.014%、鼻腔为 0.5%、肺 (经由气管内滴注) 为 4.5%。随后有了一系列吸入  $\alpha$ -干扰素人体药理学研究: Kinnula 等<sup>[57]</sup>报道了大剂量产生可测的药物浓度, 及细胞因子 (cytokine) 吸收后的生物作用产生的全身性不良反应。在一相关研究<sup>[58]</sup>中, 观察到基因重组的干扰素似乎不及天然干扰素吸收来得好。在家兔肺灌注模型的研究中, 也发现天然和重组  $\alpha$ -干扰素之间的代谢有差异<sup>[59]</sup>。

### 6. 降钙素

已上市的含 32 个氨基酸的非糖基化降钙素鼻喷雾在人体中的生物利用度约为 3%<sup>[60]</sup>。Mackay 等<sup>[5]</sup>报道了人降钙素在大鼠和人的结肠、大鼠肺部给药中的绝对生物利用度分别是 0.9%、0.15% 和 36%。

### 7. 人重组粒细胞集落刺激因子

人重组粒细胞集落刺激因子 (rhG-CSF) 的生物利用度计算是基于在大鼠气管内滴注后到达肺叶的量, 其估计值是心内给药的 62%。这一分子质量为 18.8kDa 的蛋白质, 约有 20% 可被吸收, 在给药后 6min 内出现在血浆中。

吸收药物的生物活性以血液循环中白细胞的增多来确定<sup>[20]</sup>。甚至此蛋白质在实验动物中重复给药, 也没有发现明显的毒性。且发现其分子的 Peg 化形式吸收良好。吸收的百分比和范围受到给药方式的显著影响 (滴注、干粉吸入和雾化给药), 这反映了药物进入肺深部的差异。

## 多肽及蛋白质局部作用的肺吸收

很多蛋白质的呼吸道给药用于治疗局部疾病已有研究<sup>[61]</sup>。在有些研究中, 吸收的药物也进入全身循环。当相似分子的吸收考虑用于全身给药时, 或大分子局部给药出于安全需要, 估计其全身暴露时, 其结果有实用意义。

#### 1. 环孢素

环孢素是从真菌中分离出的十一肽, 它是免疫抑制剂, 用于预防器官移植时排斥反应。其吸入的有效性已在肺移植患者中进行了研究。很快就观察到了血药峰值, 之后是慢相清除, 但对这一现象的解释基于此化合物较低的水溶性<sup>[62]</sup>。

#### 2. $\alpha$ -1 抗胰蛋白酶

$\alpha$ -1 抗胰蛋白酶 (A1AT) 一向是以注射形式治疗遗传性 A1AT 缺乏症, 但有显著增加肺气肿发生的危险。人血来源的和基因重组的 A1AT 经雾化吸收进入淋巴和血液, 在羊和人中都有研究<sup>[63]</sup>。人血 A1AT 在羊血和淋巴内的浓度约是肺泡上皮内层液 (ELF) 中浓度的 1/1000。基因重组的人血 A1AT 是非糖基化的, 并含有一个末端蛋氨酸残基。在羊的模型中, 其药物分子从肺泡内液中的消失比人血来源的 A1AT 来得更快, 其在淋巴液中的浓度约为 ELF 的 10%, 而血浆中浓度为淋巴液中的 10%。其基因重组的形式给药 24 h 后在人血中可被检出。

#### 3. 重组人脱氧核糖核酸酶

重组人脱氧核糖核酸酶 (rhDNase) 被批准吸入治疗胞囊纤维化症<sup>[9]</sup>。在啮齿类和猴中单剂量给药的生物利用度分别 <15% 和 <2%。在人体中的研究表明, 雾化吸入 rhDNase 之后, 并未导致高于内源 rhDNase 的基线水平的明显升高。

#### 4. 抗 IgE

IgE 在呼吸道和血浆中升高与过敏性哮喘有关。Sweeney 等<sup>[64]</sup>测定了呼吸道给药后不同动物及人的血浆和支气管肺泡灌洗液中人抗 IgE (E25) 单克隆抗体, 结果在数天的时间里只有少量抗体吸收, 从而提示其摄取机理是非特异性的。

## 总结

虽然现在还没有批准蛋白质或多肽通过肺部途径给药

进行全身治疗,但关于药物分子,如胰岛素的用药效率、重现性和安全性的资料很令人鼓舞。从分子角度来看,有一个总的倾向:随着相对分子质量增大,其吸收速率及吸收范围降低。但是由于我们对药物从呼吸道进入全身循环的通道多样性和复杂性了解不够,还没有预见性的理论。空气动力学直径是影响大分子药物局部分布吸收的重要参数。与气雾剂给药同步化的正确呼吸似乎是给药高效和重现性好的先决条件,重要的控制参数在表1中列出。

表1 重要的控制参数

生理参数	适于多肽和蛋白质最佳吸收的呼吸方式
吸入前的肺体积	最大呼气
气雾剂启动后的吸入体积	给药启动前吸气体积最小化
吸气流速速度	气流的最小速度与雾化给药装置允许的一致
给药时吸入的总体积	接近最大肺活量(已证明对胰岛素很重要)
在吸气与呼吸之间的呼吸暂停	几秒钟(最小时间有待实验确定)

到目前为止,用控释制剂肺部给药控制大分子吸收速率的研究相当少。已有报道<sup>[65]</sup>将胰岛素装入聚乳酸羟基乙酸小球,胰岛素在大鼠肺部可缓慢吸收。这一长效赋型剂的长期安全性有待于研究。小分子相反,这些材料的累积可在多剂量给药时发生<sup>[16]</sup>。

### 参考文献

- Farr, S. J.; Taylor, G. Insulin Inhalation. Its Potential as a Nonparenteral Method of Administration. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei, L. A., Gupta, P. K., Eds.; Ch. 13; New York, 1997; 371-378.
- Gonda, I. The Ascent of Pulmonary Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89, 940-945.
- Moss, G. F.; Jones, K. M.; Ritchie, J. T.; Cox, J. S. G. Plasma Levels and Urinary Excretion of Disodium Cromoglycate After Inhalation by Human Volunteers. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 1971, 20, 147-156.
- Takada, K.; Yamamoto, M.; Asada, S. Evidence for the Pulmonary Absorption of Fluorescent Labelled Macromolecular Compounds. *J. Pharm. Dyn.* 1978, 1, 281-287.
- Mackay, M.; Phillips, J.; Steward, A.; Hastewell, J. Pulmonary Absorption of Therapeutic Peptides and Proteins. *Respiratory Drug Delivery IV*; Byron, P. R., Dalby, R. N., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press, Inc.; Buffalo Grove, IL, 1994; 31-37.
- Gonda, I. Targeting by Deposition. *Pharmaceutical Inhalation Aerosol Technology*; Hickey, A. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1992; 61-82.
- Adjei, A. L.; Gupta, P. R., Eds.; *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins* Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997.
- Green, J. D. Pharmacotoxicological Expert Report Pulmozyme™ RhDNAse Genentech, Inc.; Human Exptl. Toxicol. 1994, 13 (suppl. 1), S1-S42, 7.
- Gonda, I. Deoxyribonuclease Inhalation. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 12; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 355-365.
- Adjei, L. A.; Lu, F. M.-Y. LH-RH Analogs. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 14; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 389-412.
- Berelowitz, M.; Becker, G. Inhaled Insulin—Clinical Pharmacology and Clinical Study Results. *Respiratory Drug Delivery VII*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J., Eds.; Serentec Press, Inc.; Raleigh, NC, 2000; 151-154.
- Clauson, P. G.; Balent, B.; Brunner, G. A.; Sendlhofer, G.; Jendle, J. H.; Hatorp, V.; Dahl, U. L.; Okikawa, J.; Pieber, T. R. PK-PD of Four Different Doses of Pulmonary Insulin Delivered with the AERx® Diabetes Management System. *Respiratory Drug Delivery VII*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J., Eds.; Serentec Press, Inc.; Raleigh NC, 2000, 155-161.
- Niven, R. W.; Whitcomb, K. L.; Woodward, M.; Liu, J.; Jornacion, C. Systemic Absorption and Activity of Recombinant Consensus Interferon After Intratracheal and Aerosol Administration. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1889-1995.
- Farr, S. J.; McElduff, A.; Mather, L. E.; Okikawa, J.; Ward, M. E.; Gonda, I.; Licko, V.; Rubsamen, R. M. Pulmonary Insulin Administration Using the AERx® System; Physiological and Physicochemical Factors Influencing Insulin Effectiveness in Healthy Fasting Volunteers. *Diabetes Technol. Ther.* 2000, 2, 185-197.
- Hanatani, K.; Takada, K.; Yoshida, N.; Nakasuji, M.; Morishita, Y.; Yasako, K.; Fujita, T.; Yamamoto, A.; Muranishi, S. Molecular Weight-Dependent Lymphatic Transfer of Fluorescein Isothiocyanate-Labeled Dextran After Intrapulmonary Administration and Effects of Various Absorption Enhancers on the Lymphatic Transfer of Drugs in Rats. *J. Drug Targeting* 1995, 3, 263-271.
- Gonda, I. *Drugs Administered Directly into the Respiratory Tract; Modeling of the Duration of Effective Drug*

- Levels. *J. Pharm. Sci.* 1988, 77, 340—346.
17. Colthorpe, P.; Farr, S. J.; Taylor, G.; Smith, I. J.; Wyatt, D. The Pharmacokinetics of Pulmonary-Delivered Insulin: A Comparison of Intratracheal and Aerosol Administration to the Rabbit. *Pharm. Res.* 1992, 9, 764—768.
18. Colthorpe, P.; Farr, S. J.; Smith, I. J.; Wyatt, D.; Taylor, G. The Influence of Regional Deposition on the Pharmacokinetics of Pulmonary-Delivered Human Growth Hormone in Rabbits. *Pharm. Res.* 1995, 12, 356—359.
19. Brown, R. A., Jr.; Schanker, L. W. Absorption of Aerosolized Drugs from the Rat Lung. *Drug Metab. Disp.* 1983, 11, 355—360.
20. Niven, R. W. Feasibility Studies with Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 15; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 413—452.
21. Qui, Y.; Gupta, P. K.; Adjei, A. L. Absorption and Bioavailability of Inhaled Peptides and Proteins. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 4; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 89—131.
22. Newman, S. P.; Hirst, P. H.; Pitcairn, G. R.; Clark, A. R. Understanding Regional Lung Deposition Data in Gamma Scintigraphy, Pulmonary Absorption of Therapeutic Peptides and Proteins. *Respiratory Drug Delivery VI*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press: Buffalo Grove, 1998; 9—16.
23. Farr, S. J.; Gonda, I.; Licko, V. Physicochemical and Physiological Factors Influencing the Effectiveness of Inhaled Insulin, Pulmonary Absorption of Therapeutic Peptides and Proteins. *Respiratory Drug Delivery VI*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1998; 25—33.
24. Egan, E. Lung Inflation, Lung Solute Permeability, and Alveolar Edema. *J. Appl. Physiol.; Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 1982, 53, 121—125.
25. Folkesson, H. G.; Westrom, B. R.; Karlsson, B. W. Permeability of the Respiratory Tract to Different-Sized Macromolecules After Intratracheal Instillation in Young and Adult Rats. *Acta. Physiol. Scand.* 1990, 139, 347—354.
26. Kohler, D. Aerosols for Systemic Treatment. *Lung* 1990, 168 (suppl.), 677—684.
27. Folkesson, H. G.; Westrom, B. R.; Dahlback, M.; Lundin, S.; Karlsson, B. W. Passage of Aerosolized BSA and the Nona-Peptide DDAVP via the Respiratory Tract in Young and Adult Rats. *Exp. Lung Res.* 1992, 18, 595—614.
28. Yamamoto, A.; Umemori, S.; Muranishi, S. Absorption Enhancement of Intrapulmonary Administered Insulin by Various Absorption Enhancers and Protease Inhibitors in Rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46, 14—18.
29. Morita, T.; Yamamoto, A.; Takakura, T.; Hashida, M.; Sezaki, H. Improvement of the Pulmonary Absorption of (Asu 1, 7)-eel Calcitonin by Various Protease Inhibitors in Rats. *Pharm. Res.* 1994, 11, 909—913.
30. Patton, J. S.; Nagarajan, S.; Clark, A. R. Pulmonary Absorption and Metabolism of Peptides and Proteins. *Respiratory Drug Delivery VI*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1998; 17—24.
31. Morimoto, K.; Yamahara, H.; Lee, V. H. L.; Kim, K. J. Dipeptide Transport Across Rat Alveolar Epithelial Cell Monolayers. *Pharm. Res.* 1993, 10, 1668—1674.
32. Taylor, G.; Colthorpe, P.; Farr, S. J. Pulmonary Absorption of Proteins: Influence of Deposition Site and Competitive Elimination Processes. *Respiratory Drug Delivery IV*; Byron, P. R., Dalby, R. N., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1994, 25—30.
33. Huchon, G. J.; Montgomery, A. B.; Lipavsky, A.; Hoeffel, J. M.; Murray, J. F. Respiratory Clearance of Aerosolized Radioactive Solutes of Varying Molecular Weight. *J. Nucl. Med.* 1987, 28, 894—902.
34. Effros, R. M.; Mason, G. R. Measurements of Pulmonary Epithelial Permeability In Vivo. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1984, 129 (Suppl.), S59—S65.
35. Gonda, I. Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery. *Topics in Pharmaceutical Sciences 1991*; Crommelin, D. J. A., Middha, K. K., Eds.; Ch. 7; Medpharm Scientific Publishers: Stuttgart, 1992; 95—115.
36. Farr, S. J.; Rowe, A. M.; Rubsamen, R.; Taylor, G. Aerosol Deposition in the Human Lung Following Administration from a Microprocessor Controlled Pressurised Metered Dose Inhaler. *Thorax* 1995, 50, 639—644.
37. Phipps, P. R.; Gonda, I.; Anderson, S. D. Apparatus for the Control of Breathing Patterns During Aerosol Inhalation. *J. Aerosol Med.* 1992, 5, 155—170.
38. Gonda, I.; Schuster, J. A.; Rubsamen, R. M.; Lloyd, P.; Cipolla, D.; Farr, S. J. Inhalation Delivery Systems with Compliance and Disease Management Capabilities. *J. Contr. Rel.* 1998, 53, 269—274.
39. Mathias, N. R.; Yamashita, F.; Lee, V. H. L. Respiratory Epithelial Cell Culture Models for Evaluation of Ion and

- Drug Transport. *Adv. Drug Del. Rev.* 1996, 22, 215—249.
40. Byron, P. R.; Roberts, N. S.; Clark, A. R. An Isolated Perfused Rat Lung Preparation for the Study of Aerosolized Drug Deposition and Absorption. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75, 168—171.
  41. Pettit, D. K.; Moutvic, R.; Maliszewski, C. F.; Abbott, N. M.; Gombotz, W. R.; Smith, P. B.; Zhusti, A.; Slauter, R. W. Pharmacokinetics of Interleukin-4 Receptor Delivered to Primates by Nebulization and Intravenous Injection. *Respiratory Drug Delivery VII*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J., Eds.; Serentec Press Inc.; Raleigh, NC, 2000; 405—406.
  42. Pillai, R. S.; Hughes, B. L.; Wolff, R. K.; Heisserman, J. A.; Dorato, M. A. The Effect of Pulmonary-Delivered Insulin on Blood Glucose Levels Using Two Nebulizer Systems. *J. Aerosol Med.* 1996, 9, 227—240.
  43. Laube, B. L.; Benedict, G. W.; Dobs, A. S. Time to Peak Insulin Level, Relative Bioavailability, and Effect of Site of Deposition of Nebulized Insulin in Patients with Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus. *J. Aerosol Med.* 1998, 11, 153—173.
  44. Niven, R. W.; Ip, A. Y.; Mittelman, S. D.; Farrar, C.; Arakawa, T.; Prestrelski, S. J. Protein Nebulization: I. Stability of Lactate Dehydrogenase and Recombinant Granulocyte-Colony Stimulating Factor to Air-Jet Nebulization. *Int. J. Pharm.* 1994, 109, 17—26.
  45. Mumenthaler, M.; Hsu, C. C.; Pearlman, R. Feasibility Study on Spray-Drying Protein Pharmaceuticals: Recombinant Human Growth Hormone and Tissue-Type Plasminogen Activator. *Pharm. Res.* 1994, 11, 12—20.
  46. Schuster, J. A.; Rubsamen, R. M.; Lloyd, P.; Lloyd, J. The AERx™ Aerosol Delivery System. *Pharm. Res.* 1997, 14, 354—357.
  47. Cipolla, D. C.; Clark, A. R.; Chan, H. - K.; Gonda, I.; Shire, S. J. Assessment of Aerosol Delivery Systems for the Recombinant Human Deoxyribonuclease I (rhDNase). *STP Pharma Sciences* 1994, 4, 50—62.
  48. Clark, A. R.; Dasovich, N.; Gonda, I.; Chan, H. - K. The Balance between Biochemical and Physical Stability for Inhalation Protein Powders. *Respiratory Drug Delivery V*; Byron, P. R., Dalby, R. N., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press, Inc.; Buffalo IL, 1996; 167—174.
  49. Chan, H. K.; Gonda, I. Solid State Characterization of Spray-Dried Powders of Recombinant Human Deoxyribonuclease (rhDNase). *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 647—654.
  50. Anderson, S. D.; Brannan, J.; Spring, J.; Spalding, N.; Rodwell, L. T.; Chan, K.; Gonda, I.; Walsh, A.; Clark, A. R. A New Method for Bronchial-Provocation Testing in Asthmatic Subjects Using a Dry Powder of Mannitol. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997, 156, 758—765.
  51. Clark, A. R.; Shire, S. J. Formulation of Proteins for Pulmonary Delivery. *Protein Formulation and Delivery*; McNally, E. J., Ed.; Ch. 7; Marcel Dekker, Inc.; New York, 2000; 201—234.
  52. Gelfand, R. A.; Schwartz, S. L.; Horton, M.; Law, C. G.; Pun, P. F. Pharmacological Reproducibility of Inhaled Human Insulin Pre-Meal Dosing in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes* 1998, 47, A99.
  53. Kipnes, M.; Otulana, B.; Okikawa, J.; Farr, S.; Jendle, J.; Thippawong, J.; Schwartz, S. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Pulmonary Insulin Delivered Via the AERx Diabetes Management System in Type 1 Diabetics. *Abstr. EASD, Jerusalem, Sept. 2000.*
  54. Wall, D. A.; Smith, P. L. Inhalation Therapy for Growth Hormone Deficiency. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 16, Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 453—469.
  55. Patton, J. S.; Platz, R. M. Routes of Delivery; Case Studies (2); *Pulmonary Delivery of Peptides and Proteins for Systemic Action. Adv. Drug Del. Rev.* 1992, 8, 179—186.
  56. Laube, B. L. In Vivo Measurements of Aerosol Dose and Distribution; Clinical Relevance. *J. Aerosol. Med.* 1996, 9 (Suppl. 1), S77—S91.
  57. Kinnula, V.; Mattson, K.; Cantell, K. Pharmacokinetics and Toxicity of Inhaled Human Interferon-Alpha in Patients with Lung Cancer. *J. Interferon Res.* 1989, 9, 419—423.
  58. Maasilta, P.; Halme, J.; Mattson, K.; Cantell, K. Pharmacokinetics of Inhaled Recombinant and Natural Alpha Interferon. *Lancet* 1991, 337, 371.
  59. Bocci, V.; Pessina, G. P.; Pacini, A.; Paulesu, L.; Muscettola, M.; Mogensen, K. E. Pulmonary Catabolism of Interferons; Alveolar Absorption of 125 I-Labeled Human Interferon Alpha is Accompanied by Partial Loss of Biological Activity. *Antiviral Res.* 1984, 4, 211—220.
  60. Physicians' Desk Reference, PDR Electronic Library, Release 2000; Medical Economics Company.
  61. Adjei, A. L. Part Three; Localized Delivery of Peptides and Proteins to the Lung; Case Studies. *Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*; Adjei,

D

- A. L., Gupta, P. R., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 277—279.
62. Burckart, G. J.; Keenan, R.; Griffith, B. P.; Iacono, A. T. Cyclosporine. Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 8, Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 281—299.
63. Hubbard, R. C. Alpha-1 Antitrypsin. Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins; Adjei, A. L., Gupta, P. R., Eds.; Ch. 10, Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 315—330.
64. Sweeney, T. D.; Marian, M.; Achilles, K.; Bussiere, J.; Ruppel, J.; Shoenhoff, M.; Mersny, R. Biopharmaceutics of Immunoglobulin Transport Across Lung Epithelium. Respiratory Drug Delivery VII; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J., Eds.; Serentec Press, Inc.; Raleigh, NC, 2000; 59—66.
65. Edwards, D. A.; Hanes, J.; Caponnetti, G.; Hrkac, J.; Lotan, N.; Ben-Jebria, A.; Langer, R. Large Porous Biodegradable Particles for Pulmonary Drug Delivery. Science 1997, 276, 1868—1871.

(陈桂良 译)

# 儿科用药和剂型

Rosalie Sagraves

University of Illinois at Chicago, Chicago, Illionis, U. S. A.

## 引言

儿科患者的用药有很多困难,与给成人用药相比,医务人员和父母没有经历过或较少经历这些挑战。首先,大多数药物小儿用药的信息较少。事实上,关于小儿使用的标签,在美国上市的药物中只有大约 20%<sup>[1]</sup>。Milap Nahata 在 1999 年一篇关于儿科用药处方的文章中提到,在 80 种最常用于新生儿和幼儿的药物中,只有 5 种被批准作为儿科用药<sup>[1]</sup>。其次,许多儿科用药的剂型其实不适合儿童服用,这其中甚至包括一些已批准的儿科用的药物。这已经导致很多需要解决的小儿用药方面的问题。例如,这种药物已经被批准用于儿科患者了吗?它适用于什么年龄组?如果没有被批准,有没有科学的资料指导我们判断这种药物用于各种年龄的儿科患者是否安全有效?如果这种药可以用于儿童,那么应该每次给予什么剂量,用药频率如何呢?应该以什么途径给药?应该选择什么剂型呢?如果没有适合小孩用药的剂型,那么可否临时制备呢?有没有临时处方的稳定性研究、口味试验、儿童临床数据等?应该如何监测这种药物的效果和副作用?对于一种特定药物来说,由成人测定得到的药物治疗信息可能不能应用于儿科患者身上,这是由于药效和药动以及病理状态都不相同。对于特定药物来说,不同年龄组儿科患者的许多使用问题,只有通过特定健康问题的特定药物治疗的随机对照试验研究来解决。

1997 年,食品药品监督管理局(FDA)提出了药品制造商对儿童适应证的新药如何评价安全性和有效性的新法规<sup>[1,2]</sup>。其后,FDA 和美国药理学科学家协会(AAPS)与学者、制药工业代表、美国药典(USP)代表举行了一个会议,讨论这些 FDA 提出的法规。

FDA 1997 年现代化法案(FDAMA)包含了能用于儿科患者的药物在开发和上市过程中的财政激励措施<sup>[3]</sup>。一些激励措施包括延长 6 个月的市场独占期,免除那些已经批准用于成人的儿科药物所需的补充申请费用。除此之外,FDA 出版了一个已获批准的药物列表,这些药物附加的儿科数据可能会对儿科患者的健康有益<sup>[4]</sup>。对这个表上的药物,FDA 可能会问药品制造商为什么没有寻求把这种药物用于小儿的批准。迄今为止,在这个领域还没有取得很多进展,可能是在等待 FDAMA 的最后通过。

各种医药机构多年来致力于对儿童、父母、教育者和医护人员进行有关药物及其正确使用方法的教育。的确,帮忙照顾儿童的人可能没受过足够的培训来教育孩子们了解他们会用到的药物。因此,在 2000 年 6 月 USP 开始建立

三个目标:对孩子们进行药物教育的原则,针对儿童的获取信息和评价信息的指南,在一个标准化的模式下建立特定课程信息<sup>[5]</sup>。USP 对儿童进行药物教育的姿态是在它们的网址上([www.usp.org](http://www.usp.org)),公布以下几条信息<sup>[5]</sup>:

- 编写和评价适合于儿童和青少年的药物教育课程与教材指南(美国健康联合会和 USP 联合出版);
- 儿童问药指南;
- 儿童药物教育;
- 和孩子们谈论他们的药(由 Pfizer 和 USP 联合编写并发给儿科医生和孩子们家人的小册子);
- 关于儿童和药物的研究和课程的参考书目,要带有注解。

USP 已经开始和位于纽约的国家健康教育中心合作编写教材,以帮助全国范围内的学校对孩子们可能需要服用的药物增加了解。对健康教育方面需要做的事情,USP 采取了如下方法<sup>[5]</sup>:

对合理的学校医药政策的建立提供方便和捐助。这些政策包括:对学生和全体教职员工进行教育的指导原则;对有关药物获得、运输、储存、管理、使用、处置的指导原则;对隐私保护的指导原则;在小学和初级中学保存记录的指导原则。应该主动采取措施和适当伙伴合作。

USP 已经与国家儿童健康和人类发展协会(NICHHD)合作制定一个药物列表,其中的药物需要更多的儿科信息以保证对儿童的正确使用。USP 也在评估婴儿、儿童和成人之间可能影响药物剂量的相似性和差异性,这有助于形成儿童用药的正确标签。USP 正在参阅文献制定一个基于可靠数据的药物列表。USP 成员可以通过联络 Joyce Weaver([jpw@usp.org](mailto:jpw@usp.org))找到这些信息。

这些关于儿科剂量和剂型的概述涵盖了儿科医护人员每天都要面对的问题,例如随着婴儿、幼儿、儿童、青少年成熟过程中的生理变化而引起的与年龄相关的药代动力学和药效学变化,这些变化可以影响各种给药途径的吸收、分布、代谢和消除。为了对其药代动力学变化有更多的了解,对治疗窗比较窄和药效学数据(也就是与受体部位药物浓度相关的药理效应)与药动学数据相关的药物,必须进行药物治疗药物监测(TDM)。还要说明药物的各种给药途径,包括静脉注射(iv)、口服(po)、肌肉注射(im)、皮下注射(sc)、经皮、直肠、耳、鼻、眼和吸入。另一个要讨论的问题是为儿科患者选择产品。

为了更好地了解药物的处置变化,儿科人群需要分成几个不同的组(表 1)。这是因为婴儿、幼儿、儿童、青少年和成人有不同的身体组成成分(如他们体内的油脂和水的比例不同),而且他们的身体器官处于不同的发展阶段。

在药物治疗中,不同年龄儿童的吸收、分布、代谢和消除都有明显变化。

表1 儿科年龄组术语

用语	定义
妊娠年龄	从母亲最后一次月经期到婴儿出生的期间;出生时,对新生儿进行体检,按周计算 Dubowitz 分数,确定妊娠年龄
出生后年龄	自从出生后的年龄
受精后年龄	受精后的年龄,即妊娠加上出生后年龄
新生儿	指出生不满一个月的婴儿
早产儿	孕期少于 37 周出生的
足月儿	孕期在 37~42 周出生的
迟产儿	孕期长于 42 周出生的
婴儿	年龄 1 个月至 1 岁
儿童	1~12 岁
青少年	12~18 岁

## 小儿科药动学和药效学

### 1. 生理发育对药动学和药效学的影响

合理的儿科药物治疗首先基于对特定药物的了解,包括它的药动学和药效学,随着儿童从出生到青春期的生理成熟度的不同它们会改变。产生的生理变化会影响药物的吸收、分布、代谢和消除。最剧烈的变化发生在出生初期。

### 2. 口服吸收

途经胃肠道(GI)的药物吸收依赖于患者因素、口服药物的理化特性和药物处方。影响药物 GI 吸收的患者因素包括吸收面积、黏膜成熟程度、胃和十二指肠的 pH、胃排空时间、GI 蠕动、酶活性、GI 道的细菌群、饮食,还包括服药时胃内容的状态<sup>[6~8]</sup>。患者因素受快速的成熟变化影响,这种变化发生在整个孩童时期,但主要发生在出生后的最初几个月里。

大部分 GI 途径的药物吸收都是被动扩散,但是许多药物的理化因素影响其吸收程度。这些因素包括分子量、脂溶性、离子化以及崩解和溶出速度<sup>[7]</sup>。此外,药物吸收可能还取决于所选择的药物剂型,如液体剂型、需要崩解的片剂或缓释产品,以及所选用的特定品牌。对于定时释放的药剂来说,其释放特征也必须加以考虑。

#### 2.1 胃的 pH

当检查与患者有关的影响口服吸收的因素(如胃的 pH)时,应该注意顺产的至少 32 周妊娠期的婴儿,出生时胃的 pH 为 6~8<sup>[7,8]</sup>。胃的 pH 在随后的几个小时内迅速下降,直至 3 以下<sup>[7,8]</sup>。新生儿开始时胃的 pH 和成人相比呈碱性,这是由于在新生儿胃里有羊水存在<sup>[9,10]</sup>。从那以后,胃 pH 保持酸性直到大约十天,在 10~30 天时会出现一个胃酸产生的最低点。然后胃酸产量开始增加,但胃液

pH 和最大胃液输出量(以每千克计),在新生儿期过去之前,可能和成人的情况不相符合<sup>[7]</sup>。

### 2.2 胃排空和胃肠蠕动

胃排空时间对于新生儿,尤其是刚出生不到 24 小时的新生儿来说,可能是变化的<sup>[7]</sup>。直到他们 6~8 个月后,才有可能达到成人的水平,而且可能和饮食有关<sup>[11,12]</sup>。对幼儿来说,胃肠道转运时间可能会延长而且蠕动情况无法预料<sup>[8,13]</sup>;两者好像都受到饮食的影响<sup>[13]</sup>。Lebenthal 及其同事提到,母乳喂养的婴儿,在 45 天大的时候,胃肠道滞留时间超过 10 小时,而相同情况下,用标准餐喂养的婴儿少于 10h<sup>[14]</sup>。还有一点应该提到,那就是年纪比较小的幼儿,由于胃肠道发育还不成熟,所以有胃内容物返流的倾向。所有这些因素都会影响药物的吸收程度。

### 2.3 胃肠道的酶活性和菌群

在刚出生时,胰酶活性可能比较低,但是其他的酶如淀粉酶、脂肪酶、胰岛素在出生后的一年内就达到成人水平<sup>[15]</sup>。早产婴儿比足月的婴儿的淀粉酶水平要低。胰酶水平比较低可能是导致新生儿对前药酯的水解能力比较低的原因,氯霉素棕榈酸酯就是一例<sup>[7]</sup>。由于比较低的脂肪酶和胆酸水平,婴儿可能不会较好地吸收脂溶性药物<sup>[8]</sup>。

在胃肠道菌群及其对药物吸收的影响方面,还需要更多的信息,而且饮食和抗生素都可以改变胃肠道的菌群<sup>[7]</sup>。

### 2.4 吸收表面积

婴儿的小肠面积,按比例来说,比成人的要大,这一生理差别可以增加药物经胃肠道的吸收。

### 3. 经肌肉吸收

当婴儿不能口服给药,或没有口服制剂的时候,可能要采用肌肉注射或静脉注射的途径。这其中,由于肌肉注射有疼痛、刺激性、吸收不好而不太受欢迎。肌肉注射的吸收受不同的理化和患者因素的影响。需要考虑的理化因素包括药物的脂或水溶性、药物浓度和表面积。当讨论药物溶解性时,应该指出脂溶性药物容易透过上皮细胞组成的毛细血管壁,而水溶性药物则以较快的速度从细胞间液经过毛细血管的孔隙进入血液<sup>[16]</sup>。对于肌肉注射来说,脂溶性药物可能吸收更快,但是水溶性药物更好,这是由于药物在给药前必须在水溶液中保持稳定,而且给药后;药物要在生理 pH 下是水溶性的,直至被吸收<sup>[16]</sup>。

药物的吸收可能取决于药物的浓度,但是还没有数据来证实增加或降低药物浓度可以导致更好的吸收。药物制剂渗透压的增加,尽管相对于其他物质(比如赋形剂的添加)来讲是次要的,但是也可能会减少或减慢肌肉注射药物的吸收<sup>[16]</sup>。如果肌肉的吸收面积比较大或者药物分布于大量肌肉中,那么吸收速率会更快。肌肉注射后对注射部位进行按摩,也可以提高吸收速率<sup>[16]</sup>。

对于肌肉注射药物的吸收来说,其生理因素的影响取



决于注射部位肌肉组织充足的血流量。在不同的肌肉组织中,由于注射部位血流量的不同会导致吸收速率的不同。例如,三角肌的吸收快于胸大肌,更快于臀肌<sup>[16,17]</sup>。这是由于三角肌的血流比胸大肌快7%,比臀肌快17%<sup>[18]</sup>。能够减少肌肉组织血流量的生理条件可以降低药物的吸收速率和(或)吸收程度。血液灌注减少或止血剂的代谢失调经常可以在生病的婴幼儿身上观察到,可能会减少肌肉注射药物的吸收。对于使用了骨骼肌松弛药(如溴化双哌啶双酯)的婴儿来说<sup>[16]</sup>,由于降低了肌肉的紧张度,可能会提高药物吸收。婴幼儿肌肉量较少也会减少药物的充分吸收。

注射的技巧也可能改变肌肉注射药物的吸收。有报道说,注射针头的长度不同就有这种情况发生。使用较长的针头(38mm与31mm,1.5in与1.25in),对成人肌肉注射安定,可以得到更高的血清浓度<sup>[18]</sup>。这可能是由于较短的针头可能将药物注射到了皮下,而不是肌肉。

有些药物肌肉注射后比口服吸收慢,这些药物有地西洋、地高辛和苯妥英。这可能是由于它们需要水、乙醇、丙二醇来溶解,肌肉注射后在肌肉中它们是不溶的<sup>[18]</sup>。

肌肉注射的并发症包括神经伤害、肌肉痉挛、形成脓肿<sup>[19]</sup>。比较少见的有:肌肉出血、蜂窝织炎、皮肤色素沉着、组织坏死、肌肉萎缩、坏疽、形成囊肿或疤痕。除此之外,还可能由于针头折断造成伤害,或不小心注射到关节或静脉<sup>[19]</sup>。

#### 4. 皮下吸收

皮下途径给药适用于胰岛素等需要缓慢吸收的药物。注射技巧和患者因素(如血流量和生理构造)都很重要<sup>[18]</sup>。锻炼、高位、加热注射部位,或不经意的肌肉注射而非皮下注射,都会增加药物的吸收,而且在某些情况下是比较危险的,例如对胰岛素的过量吸收会导致糖尿病患者低血糖<sup>[18]</sup>。次要的副作用有:组织萎缩、良性和非良性脓肿、脂肪代谢障碍、囊肿和形成肉芽肿。

#### 5. 骨内药物吸收

如果无法静脉给药,骨内给药可以作为一种儿科给药途径,例如在心肺再生(CPR)的情况下可以使用,这是由于这种给药途径和静脉给药很相似<sup>[20]</sup>。如果经由这个途径,药物或药液移动迟缓,可以用生理盐水清洗针头。骨内给药可以用于诸如肾上腺素、阿托品、碳酸钠、多巴胺、地西洋、异丙(去甲)肾上腺素、苯妥英、二苯乙内酰胺、镇静安眠剂、地塞米松和各种抗生素<sup>[20]</sup>。

#### 6. 经皮或透皮吸收

对于全身给药来说,经皮(透皮或局部)不是一个经常用于儿科的给药途径。典型的皮肤用药都是起局部作用的。随着更多的透皮系统开发为给药系统,将来用于全身给药会更加频繁。

经皮吸收或透皮吸收以以下方式发生:开始时局部用

药物被吸收进角质层,然后透过角质层进入表皮层,然后进入真皮层,在真皮层,药物经由毛细血管进入循环系统。扩散通过角质层是限速步骤,除非皮肤的血灌注量减少。在后一种情况,扩散受药物转运至毛细血管的速度控制,而不是由前面所说的通过角质层的速度控制。以下因素影响药物的经皮或透皮吸收<sup>[21,22]</sup>:

- 患者年龄;
- 用药部位;
- 角质层水化状态;
- 角质层厚度和完整程度;
- 溶质的物理特性;
- 媒介物或溶剂的物理特性。

药物扩散可由式(1)解释:

$$J = \frac{K_m \times D_m \times C_s}{l} \quad (1)$$

式中:  $J$  为流量;  $K_m$  为分配系数;  $D_m$  为特定状态(比如温度和水合程度)下的扩散常数;  $C_s$  为浓度梯度;  $l$  为角质层厚度<sup>[21]</sup>。

脂溶性药物比水溶性药物更容易吸收而进入角质层,但是水溶性药物不容易积存在角质层。因此,脂溶性药物容易在角质层蓄积,而水溶性药物更易于扩散透过角质层,而到达表皮和真皮<sup>[21]</sup>。

##### 6.1 患者年龄

药物透皮吸收对于不同年龄的人有很大的不同,但对于妊娠期少于32个星期的婴儿来说差别不大<sup>[23]</sup>。早产儿透皮吸收比较快,这是由于出生时角质层还没有完全形成。有一例是用3%的六氯酚给早产儿多次洗澡,结果由于吸收过量而导致脑病<sup>[21]</sup>。在局部用药后,皮质甾类的药物戊酸倍他米松的吸收导致儿童视丘下部—垂体—肾上腺轴抑制。经皮给药时儿童可能对药物有较多的吸收,并不是由于较高的吸收速率,而是由于用药面积比较大或是每公斤体重的用药量太大。儿童经皮给药导致死亡的例子还有水杨酸和石炭酸<sup>[21]</sup>。含酒精和碘的产品对儿童局部用药的毒性也有报道<sup>[23]</sup>。

##### 6.2 应用部位

药物透皮吸收的能力取决于角质层的厚度。比如腹部的皮肤比脚底的皮肤更容易吸收。在特定部位可以用封闭性的辅料来增加药物的局部吸收。

##### 6.3 角质层状态

药物的经皮吸收可以因角质层水化程度的增加而提高。该水化程度对亲水药物透皮吸收的影响比亲油性药物的大。药物透过有损伤的皮肤要比完整的皮肤要快。由于干燥而引起的皮肤损伤可以导致皮肤干裂和破损区域的药物透过增加。

##### 6.4 溶质

溶质或药物的透过依赖于溶质极性和溶质载体的极性。

## E

## 6.5 载体或溶剂

用于局部给药的典型药物载体包括：洗剂、膏剂、霜剂、乳剂和凝胶。其他物质如乳化剂等可以加入到药物和载体中以改善乳剂的质地，添加稳定剂提高药物或载体的稳定性，添加增稠剂增加黏性，或添加润湿剂来使皮肤湿润<sup>[21]</sup>。对于儿童的局部皮肤用药，载体和添加剂的选择很重要，这对于早产儿尤其重要。这是由于他们对药物和其他成分的吸收可能性更大。有些被认为是惰性的成分用于婴儿时产生了毒性反应。

## 7. 透皮给药系统

可以用于透皮给药系统的药物应该具有足够的皮肤穿透能力，以保证通过该系统药物的透过速度基本保持恒定<sup>[21]</sup>。而且，这种药物还不能刺激皮肤或使皮肤过敏。人们期望在将来更多的药物被开发为经皮给药。对于口服给药比较困难的儿童，这可以作为一个替代途径。

## 8. 气管内吸收

在心肺再生(CPR)情况下，其他给药途径如静脉注射不能使用时，可以采用器官内吸收作为给药途径。它提供了一个快速给药的途径，而且吸收和分布都很快<sup>[24]</sup>。有研究证明它和静脉给药的达峰时间相近，血药浓度大约是静脉给药的10%~33%，所以药效较差。对一些药物如肾上腺素还显示了药物储库效应。还需要进行很多研究来确定这种途径的最佳给药剂量、给药载体和最有效的给药技巧。

## 9. 直肠吸收

直肠途径用于局部治疗和全身治疗，有以下原因：

- 令人恶心或气味很难闻；
- 由于味道，质地等原因导致患者拒绝服用；
- 上部呼吸道疾病影响吸收；
- 药物吸收受食物或胃排空影响；
- 药物在胃液中分解，但在直肠液中稳定；
- 可以部分避免首过效应。

药物的直肠吸收受多种生理因素的影响，比如表面积、血液供应、pH、直肠液的体积，还可能直肠内微生物的代谢。直肠血液由直肠下动脉和直肠中动脉灌注，由直肠上、中、下静脉流出<sup>[25]</sup>。直肠中、下静脉直接流入体循环，上直肠静脉流入门脉系统。由直肠较低端吸收的药物直接进入体循环，而由较高端吸收的药物则易于产生肝脏首过效应<sup>[25]</sup>。所以，首过效应较强的药物直肠给药比口服有更高的生物利用度。直肠液的体积、pH、直肠顶部粪便的存在都会影响药物的吸收。由于直肠液的体积比胃肠道其他部分液体的体积要小，药物可能不能完全溶解。除此之外，直肠寄居着各种微生物，这些微生物是否参与了药物的代谢还在争论中<sup>[25]</sup>。吸收还受到所选剂型的影响。例如，药物的水溶液或乙醇溶液在直肠可以很快的吸收，但

是药物栓剂的吸收依赖于基质、表面活性剂的存在、活性成分的粒径和药物的浓度<sup>[25]</sup>。以下问题可能与直肠给药有关<sup>[25]</sup>：

- 直肠给药后由于排便而导致吸收减少；
- 由于直肠吸收面积小导致直肠给药吸收不如口服；
- 由于直肠液体积比胃液或十二指肠液的小等而导致溶解性问题；
- 直肠微生物导致的药物降解；
- 患者和父母的接受度。

## 10. 分布

药物由体循环而分布于各种器官、组织和细胞。分布依赖于患者因素、药物的理化特性和给药途径。影响药物分布或药物分布体积( $V_d$ )的患者因素包括身体组成、血流、蛋白和组织结合特性、渗透性<sup>[7,8]</sup>。这些特性很多都与年龄有关。影响药物分布的理化特性包括分子量、pK<sub>a</sub>和分配系数。

## 10.1 身体组成差异

与年龄有关的身体组成变化可以改变药物的 $V_d$ 。在出生时，早产儿体重的80%都是水，而足月婴儿全身水(TBW)大约是75%<sup>[13]</sup>。婴儿细胞外液占TBW的比例是最高的，早产儿大约是65%，足月婴儿大约是35%~44%，而成人大约是20%。细胞内液(ICW)在整个生命过程中最稳定(早产儿是25%，足月婴儿是33%，成人是40%)<sup>[7]</sup>。婴儿的TBW百分比在大约一岁的时候达到接近成年男性的水平(60%TBW)；在12岁青春期末时达到与成人一样的水平<sup>[8]</sup>。女性由于体内脂肪较多，所以TBW百分比比较低(50%)。因此，对于婴儿，由于TBW比较高，水溶性药物如氨基糖苷类比年龄较大儿童或成人有较高的 $V_d$ 。例如氨基糖苷类庆大霉素的 $V_d$ 和细胞外液的体积比较接近，对婴儿来说是0.5~1.2L/kg，对于年龄较大的儿童或成人是0.2~0.3L/kg<sup>[8]</sup>。

早产儿与足月婴儿相比较，脂肪组织的含量可以从0.5%增加到大约16%<sup>[26,27]</sup>。男孩体内脂肪在5~10岁会急剧增加，然后会逐渐减少，直到大约17岁；女孩在青春前期脂肪组织会快速增加<sup>[9]</sup>。因此，对于婴儿和年龄较小的幼儿来说，脂溶性药物的 $V_d$ 比较小。有报道说，安定在婴儿中的表观分布容积 $V_d$ 为1.4~1.8L/kg，而成人是2.2~2.6L/kg<sup>[28]</sup>。

## 10.2 蛋白结合

婴儿体内与药物结合的血浆蛋白的浓度比较低(例如清蛋白浓度为成人的80%)，而且给予同一种药物时，婴儿清蛋白与药物的亲和力也可能比成人低。较低的亲和力可能导致诸如胆红素等物质与药物竞争结合各种清蛋白位点。在大约一岁的时候，儿童开始具有和成人相近的血浆蛋白结合能力<sup>[13]</sup>。

婴儿用药如青霉素类、苯巴比妥、苯妥英和茶碱，和

成人相比有较低的亲和力。这可能增加游离药物浓度或药活性药物的浓度,并且可能会改变药物表观分布容积。因此,为了获得适当的治疗血药浓度,婴儿需要和成人不同的剂量,以 mg/kg 计。

对婴儿来说,有些药物如磺胺类,不仅和血浆蛋白结合,还会从结合位点置换血浆胆红素。这可能增加婴幼儿形成黄疸的危险性。药物置换胆红素的重要性还在争论中,因为胆红素与白蛋白的亲和力可能大于药物与白蛋白的亲和力<sup>[29]</sup>。

### 10.3 组织结合

药物与各种组织的亲和力看起来是随年龄变化的,比如地高辛对婴儿红血球的亲和力高于成人。这可能是由于婴儿红血球的结合位点比较多<sup>[30]</sup>。

### 10.4 药物对中枢神经系统的渗透

与年龄较大的儿童和成人相比,药物更容易进入婴儿的中枢神经系统(CNS)。这可能是由于婴儿的中枢神经系统还不成熟和血脑屏障还没有充分形成。当抗菌剂用于细菌性脑膜炎和抗惊厥剂用于痉挛治疗时,考虑这一点是很重要的。

## 11. 代谢

尽管药物代谢可以在包括肺、胃肠道、肝、肾以及血液等不同的人体器官中进行,但是肝是最主要的代谢器官。大部分药物都是由脂溶性的母体代谢为极性更强、亲脂性较差的代谢物,以利于从肾脏中消除<sup>[9]</sup>。

### 11.1 肝脏代谢

大部分药物在肝脏中都是以 I 相或 II 相代谢过程进行代谢。I 相反应一般是进行生物转化,将活性药物转变为水溶性更强、没有活性或活性较差的化合物。氧化、还原、水解和羟基化是 I 相反应的具体例子<sup>[6,8,16]</sup>。氧化反应主要由细胞色素 P450 系统催化,它包括许多同工酶(至少有 13 种基本酶),这些同工酶含有很多特定基因族<sup>[6]</sup>。参与人类药物代谢的同工酶有 CYP-450、1A2、2D6、2C19 和 3A3/4 等<sup>[6]</sup>。氧化酶系统在婴儿出生后成熟,出生后 6 个月,就接近甚至超过成人水平。关于受 I 相反应影响的药物,可以在文献<sup>[6]</sup>中找到更多的信息。

II 相反应(葡萄糖醛酸化、磺酸化、乙酰化、谷胱甘肽结合)通常涉及活性药物与体内内源性物质的结合,以形成水溶性更强的代谢物<sup>[16]</sup>。葡萄糖醛酸化是研究得最彻底的反应。在子宫中,葡萄糖醛酸化相关的酶——糖醛酸基转移酶,被认为受到母体糖皮质激素的抑制。出生后,此代谢系统迅速成熟,并在大约 2 岁时达到成人水平<sup>[29]</sup>。

磺酸化能力在出生前或出生时就已经得到了全面发展。婴幼儿可非常容易地磺酸化对乙酰氨基酚,成人主要的代谢途径是葡萄糖醛酸化<sup>[31]</sup>。对婴幼儿的乙酰化作用还了解甚少。婴儿的乙酰化能力出生时极弱,但是在出生后大约 20

天成熟<sup>[29]</sup>。

例如,在婴儿体内茶碱很容易通过 N-甲基化代谢为咖啡因(临床上和较大的婴儿、儿童、成人的体内过程不相关)。它也是一种对抗呼吸暂停的药理活性物质,但是当它不容易被肝脏代谢的时候可能会有毒性,而且不成熟的肾脏对它的消除比较慢<sup>[6]</sup>。

如果母亲在孕期需要并服用了酶诱导剂如苯妥英、苯巴比妥、卡巴咪嗪或利福平,婴儿需要严密监控<sup>[16]</sup>。其他引起代谢抑制的药物有甲氧咪胍、红霉素和酮康唑<sup>[16]</sup>。

### 11.2 肾脏消除

肾脏是药物消除的主要途径,尤其是对水溶性药物或脂溶性药物的代谢产物。肾脏药物消除依赖于肾脏血流、肾小球滤过、肾小管分泌和重吸收。婴幼儿的这些功能以不同的速度成熟。足月婴儿 5~12 个月大时,就可以和成人的肾血流量差不多;肾小球滤过在 3~5 个月时接近成人水平<sup>[6]</sup>。早产儿出生时肾小球滤过率比较低,而且需要更多的时间来形成滤过能力<sup>[32]</sup>。这可能是由于他们出生时缺少足够的肾功能单元。肾小管功能在出生时比肾小球滤过功能更加不成熟,而且成熟的速度比较慢。肾小管功能在婴儿 7 个月大时,开始接近成人水平。一年后,婴儿可以获得和成人相同的肾脏功能。

氨基糖苷类(例如庆大霉素、托普霉素、氨基羟丁基卡那霉素 A)和地高辛的消除就受到肾脏成熟度的影响。氨基糖苷类在婴幼儿体内的消除和肾小球的成熟程度成正比,并且和肌酐清除率相关<sup>[33]</sup>。地高辛的肾消除和肾脏的成熟程度成正比。对这些药物,随着婴幼儿肾功能的成熟,进行剂量调节是很有必要的。除此之外,相对于成人而言,年龄较大的幼儿和儿童需要给予更高剂量以获得相同的血清浓度。这可能是由于地高辛吸收减少或消除增加所致<sup>[8]</sup>。

## 治疗药物监测

治疗药物监测应该包括整个用药过程:药物选择、产品选择、给药途径、患者年龄、适当剂量(mg/kg 或 mg/m<sup>2</sup>),并对患者进行血药浓度监测以求获得最佳药效和避免副作用。

### 1. 儿科血清药物浓度的重要差异

对一些药物,尤其是那些治疗窗比较窄的药物,要测定血清药物浓度范围,并与最大和最小治疗效果以及毒性相关。已经建立了不同药物的成人血药浓度范围的数据,并且用于小儿科患者,其中包括婴儿。这些数据也许适用于儿童的药物治疗监测,但是可能不适用于所有不同年龄段的儿童或者根本不适用于儿童。例如,Painter 等<sup>[34]</sup>提到为了终止癫痫,相对于年龄较大的儿童或成人来说,婴儿需要更高的镇静药血清浓度。Gilman 等<sup>[35]</sup>观察到为了减少癫痫的发生,婴儿需要更高的给药量以达到所需的血清药物浓度。因此,为了获得相近的药效或治疗结果,对不同

年龄的人群来说,各种药物需要有不同的血清药物浓度范围。

对血清蛋白浓度比较低的患者来说,包括婴儿,一些药物比如苯妥英,需要监测游离血清浓度,而不是总浓度。Gilman 提倡对儿科患者使用个体化给药和血清药物浓度监测,因为儿童特别是婴儿各种器官的功能成熟很快,而且药物结合蛋白的浓度变化也很快<sup>[36]</sup>。

对给予儿科患者的不同药物来说,其血清药物浓度监测会适当给出关于药物的一些信息而不是药物代谢物的信息。这会产生一个问题,儿童在进行某一种特定药物的代谢时,在代谢物浓度和代谢物种类方面会与成人不同。这一点在给早产儿服用茶碱来治疗中枢性呼吸暂停时已有报道。对婴儿来讲,茶碱的一个主要代谢产物是咖啡因,但对于年龄比较大的儿童和成人来讲,咖啡因的浓度比较低<sup>[37,38]</sup>。咖啡因对治疗呼吸暂停是有效的,所以可以增加茶碱的疗效。这一点也许有助于解释为什么治疗呼吸暂停所需要的血清浓度比哮喘要低。除此之外,在治疗癫痫时,

婴儿和年纪小的儿童而非成人血清内丙戊酸的 4-en 代谢物会产生肝脏毒性<sup>[36,39]</sup>。

## 2. 血清药物浓度

由于治疗药物监测的成本比较高,所以血清药物必须采用适当的方法提取以提供有用的信息。符合药动学规律的典型药物是那些治疗窗比较窄的药物,它们的药动学数据和药理学数据或毒性相关。对一些药物,尤其是口服给药的药物,确定谷浓度(给药前获得的血清浓度)可能最恰当。这能够消除不同吸收速率的差异,而吸收速率的不同可以影响药物的达峰浓度(例如,口服苯巴比妥、苯妥英、卡巴咪嗪或丙戊酸)。谷浓度对有些药物如地高辛是很重要的,它们需要时间分布到组织受体,通过这种途径,血清浓度可以反映药效。对于确定短半衰期药物的毒性和治疗效果,峰浓度是很好的指标。

表 2 给出了一些儿科用药的治疗血清浓度和药动学信息。

表 2 一些药物的儿童药动学资料<sup>1)</sup>

药物	治疗血清 浓度/( $\mu\text{g/mL}$ )	口服生物 利用度/%	血浆蛋白 结合率/%	$V_d$ /(L/kg)	$t_{1/2}$ /h
卡马西平	4~12	>70	40~90	1.5(新生儿) 0.8~0.9(儿童)	8~25(儿童),多剂量 给药 $t_{1/2}$ 会改变
氯硝西洋	20~80ng/mL	>85	47~80	3.2(儿童)	20~40(儿童)
乙琥胺	40~100	~100	0	0.6~0.7(儿童)	24~36(儿童)
庆大霉素	谷 $\leq 2$ 峰 4~10	无	<30	0.4~0.6(新生儿) 0.3~0.35(儿童)	3~11.5(<1周) 3~6(1周到6月) 1.2(儿童)
苯巴比妥	15~40	80~100	40~60	0.6~1.2(新生儿) 0.7~1(儿童)	45~173(新生儿) 37~72(儿童)
苯妥英	10~20	85~95	>90	1~1.2(早产儿) 0.8~0.9(足月儿) 0.7~0.8(儿童)	6~140(<8天) <sup>2)</sup> 5~80(9~21天) <sup>2)</sup> 2~20(21~36天) <sup>2)</sup> 5~18(儿童) <sup>2)</sup>
茶碱	5~15	高过100%,取 决于处方	32~40(新生儿) 55~60(儿童)	0.4~1(早产儿) 0.3~0.7(儿童)	19.9~35(新生儿) 3.4 $\pm$ 1.1(1~4岁)
丙戊酸	40~100(150) <sup>3)</sup>	100	>90 <sup>4)</sup>	0.2(儿童)	23~35(新生儿) 4~14(儿童)

1) 年龄或月数在括号内。

2) Michaelis-Menton 药动学,  $t_{1/2}$  随血清浓度而异。

3) 血清浓度上限没有明确测定。

4) 可能随血清浓度而异。

### 3. 技术因素

#### 取样量和用于血清浓度测定的取血时间点选取

由于血容量和静脉血管较小,所以进行血药浓度监测时婴儿和幼儿,以及较小儿童的采血有一定的技术性难度,因此确定一个最佳的抽血程序是很重要的。比如说,什么时候需要峰谷数据,或仅需要谷数据。对于口服和静脉注射抗惊厥剂来说,谷浓度是需要的,但是对于氨基糖苷类获得峰浓度和谷浓度都是重要的。

### 给药剂量

儿科用药应依照不同的年龄群体,以 mg/kg 或 mg/m<sup>2</sup> 计算给药。除此之外,还要考虑到患者的肝肾功能。给药途径必须基于疾病严重程度、特定给药途径的药物的可获得性和患者是否能够口服药物来确定。

参考书目在本章参考文献的后面,它包括一个手册列表,还有一些其他的有用资源,主要是关于婴幼儿用药剂量的信息。除此之外,儿科医院和大学药物信息中心也是优秀的儿科药物信息来源。

### 药物辅料和添加剂

药剂商品除了包含活性成分或治疗成分以外还包含有多种成分,它们都是些非活性成分或是惰性成分,可以分为辅料和添加剂(矫味剂、甜味剂、防腐剂、稳定剂、稀释剂和润滑剂等)。对某些成分,认为它们是非活性的或是惰性的并不合适,因为它们中的某一些已经显示出不良反应。这些不良反应对婴幼儿是危险的,因为他们可能还不能像成年人一样对这些成分进行代谢和消除。除此之外,不同年龄阶段的患者还会对这些成分如酒石黄染料产生不同的过敏反应。

苯甲醇作为一种防腐剂存在于多剂量无菌氯化钠注射液和无菌注射用水中,在注射用的多剂量药物制剂中也很常见。使用含有苯甲醇的溶液治疗血管炎时发现,这与呼吸窘迫综合征以至于婴儿死亡是有关联的,这种报道最早见于 20 世纪 80 年代早期<sup>[40,41]</sup>。在临床上,婴儿还显示出诸如阴离子缺乏增加、代谢性酸中毒、中枢神经系统抑制、痉挛、呼吸衰竭、肝肾衰竭、心脏衰竭甚至死亡。这对体重小于 1.25kg 的早产儿尤其危险<sup>[40~42]</sup>。在一项 Benda 等进行的研究中,把用过苯甲醇而幸存下来的早产儿和用过苯甲醇后出生的婴儿进行比较<sup>[43]</sup>,他们发现那些幸存者发生脑瘫的可能性比没有用过苯甲醇的婴儿要高,分别为 50% 和 2.4% ( $P < 0.001$ )。而且,两个人群中,脑瘫和智力发育迟缓的分别是 53.9% 与 11.9% ( $P < 0.001$ )。原因可能是苯甲醇的应用和婴儿代谢苯甲醇的机能不健全,尤其是那些早产儿<sup>[44]</sup>。美国小儿科研究会<sup>[45]</sup>、疾病控制中心<sup>[46]</sup>,以及 FDA<sup>[47]</sup> 推荐含有苯甲醇的药物制剂应该避免

用于婴幼儿。推荐使用不含防腐剂的静脉注射溶液<sup>[45~47]</sup>。

起初,只有给婴儿 99mg/kg 以上剂量的苯甲醇时,才会有毒性<sup>[42]</sup>,现在证明比较低剂量的苯甲醇也有毒性,会导致核黄疸和心室内出血<sup>[48,49]</sup>。所以,含有苯甲醇的药物制剂和液体应该避免用于早产儿。

苯甲酸及其钠盐以低浓度加入各种药物制剂来抑制细菌和真菌。当含有这些物质的药物制剂给予一些过敏的患者时,如那些哮喘患者,对阿司匹林过敏的人和有关风疹史的人,就会有过敏现象发生<sup>[44]</sup>。早产儿胆红素尿和全身效应产生的原因可以归根于苯甲醇,因为苯甲醇会代谢为苯甲酸<sup>[44]</sup>。

丙二醇在一些维生素静脉注射制剂,以及多种注射液如苯妥英、地高辛、地西洋中作为溶剂。MacDonald 等<sup>[50]</sup>发现,给予 MVI-12 (丙二醇的剂量大约是 3g/d) 的婴儿和给予 MVI (丙二醇的剂量大约是 3mg/d) 的婴儿比起来痉挛发生率明显地增加。而且,第一组有胆红素尿和肾衰竭发生(尽管现在 MVI 已经不在市场流通,但是 20 世纪 80 年代早期是有的)。

血液渗透压高的情况在给予维生素药物的幼儿中有报道<sup>[51]</sup>,烧伤患者局部吸收含丙二醇的产品也有报道<sup>[52,53]</sup>。烧伤患者会有代谢性酸毒症,较高的阴离子浓度,较低的钙离子浓度,急性肾衰,甚至死于丙二醇的局部吸收<sup>[44,54]</sup>。与口服含有丙二醇制剂相关的儿童病症有神经抑制、惊厥、心律不齐<sup>[55]</sup>。快速给予苯妥英会产生血压过低,心律不齐,呼吸抑制和惊厥,这可能与丙二醇有关<sup>[56]</sup>。

美国儿科用药协会推荐儿科用药不应该含有乙醇<sup>[57]</sup>。如果由于活性成分的溶解性和稳定性的关系,液体制剂必须含有乙醇,则其含量不得超过 5% (v/v)<sup>[57]</sup>。该协会还推荐,儿科含乙醇单剂量制剂的服用不应该导致血乙醇浓度超过 0.25mg/mL,液体制剂的包装单位应该控制其体积为最小,以保证即使全部服下也不会有生命危险,所有乙醇含量超过 5% 的制剂应采用安全瓶盖。该协会还建议,六岁以下的儿童需要服用含有乙醇的 OTC 药物时,应该进行监测,并且不应该连续服用,以免乙醇在体内蓄积<sup>[57]</sup>。

儿科协会公布了他们关于乙醇引起相关急性和慢性反应可能性的报告。就急性反应来说,联合应用乙醇可能会改变药物的吸收和代谢,并可导致药物相互作用(例如,和镇静剂联用时会增加镇静效果)。当服用含有酒精的药剂或含酒精的药剂与一些药物如灭滴灵、磺胺类药物、氯霉素、头孢羟唑等联用时,会出现戒酒硫样反应<sup>[57]</sup>。中枢神经系统反应(肌无力,反应迟缓,动作变形)是与服用乙醇相关的最常见急性副作用。在血液乙醇浓度为 0.01~1mg/mL<sup>[57]</sup> 时,这些反应都有可能产生。儿童乙醇的致死量大约为 3mg/kg,但是较低浓度的乙醇诱导低血糖症或与其他药物发生相互作用而导致死亡<sup>[57,58]</sup>。长时间接触乙醇可以诱导肝脏酶类,并可能因此改变药物的清除,如苯妥英、苯巴比妥和华法林<sup>[59]</sup>。在儿科用药中,其他有问题的辅料例子还有乳糖<sup>[55]</sup>、酒石黄染料<sup>[44,45]</sup>、亚硫酸盐<sup>[56]</sup>。

因此,对于医护人员,尤其是负责为早产婴儿选药和

## E

给药的人, 检查非活性成分和活性成分的存在是很重要的。药物的供应应该尽可能地选择最安全的制剂。应该互相比较各品牌的药物, 以确保没有有害成分。在医院中, 药房、治疗委员会和药学部在这个过程中扮演着十分重要的角色, 因为他们负责比较选择药物制剂。在门诊部, 医生和药剂师必须负责选取特定药物的最适合品牌。Kumar 等<sup>[60]</sup>认为, 药品的标签应该包含活性成分和辅料的名称及用量, 以便医护人员可以给婴儿挑选合适的药品。

## 静脉给药

如果医护人员没有进行儿科静脉给药的培训, 那么他们的给药方法就可能不正确, 导致不恰当或预料之外的反应。因此, 医护人员(护士、医生和药剂师)了解如何由这个给药途径给药是很重要的。

在临床上, 当需要尽可能快速和完全地给药时, 静脉途径是最常用的途径。而且, 一些药物只有静脉给药的剂型。尽管此途径是输送至全身循环最可靠的途径, 还是会出现一些问题减少或延缓药物的输送, 药物制剂的选择、所用剂量的体积、给药次数、还有静注系统的选择, 都可能有所影响。当小剂量药物以小流速给药时, 后者是最常见的原因, 小剂量小流速对婴幼儿是很常见的。这里给出了一个关于儿科静脉给药出现问题的简短讨论, 全面的讨论可以参见文献 [61, 62]。

### 1. 一次性静脉注射器械对于药物输送的影响

#### 1.1 注射速度和位置

最早探讨儿科静脉给药问题的文章出版于 1979 年, 作者是 Gould 和 Roberts<sup>[63]</sup>。在研究中, 他们演示了一种体外给药系统(图 1), 在此系统中, 输注速度和注射位点在静脉输注系统中的位置影响静注药物的输注曲线。图 1 显示了以此系统在不同位置长时间给予 95% 的庆大霉素时, 不同输注速度产生的影响<sup>[63]</sup>。当以 3mL/h 这样慢的流速输注, 药物需要更长的时间来输入, 并且输注时间依赖于注射位置(例如, 注射位置离患者越远, 给予 95% 的药物花费的时间越长, 见图 2 和图 3)。因此, 在该给药系统的 Y 位置以 3mL/h 的速度注入庆大霉素需要 400min。然而, 以相同流速在蝶状处给予 95% 的药物, 时间不到 20min。Gould 和 Roberts 还认为, 在这个系统中静脉给药花费的时间比他们预料的要长<sup>[63]</sup>。

#### 1.2 注射位置的类型

Leff 和 Roberts<sup>[61]</sup>说明了儿科患者接受的药量和药物输送速度受注射位置的类型(Y-位置、T-型、T-接口、阀门

等)和在特定位置的残留体积(死体积)影响。对于小剂量药物(少于 1mL)给药, 静脉输液管应该有微注射位置, 以防止药物滞留在注射位置。而且, 所需要的静脉输注液体量应该足够冲洗注射位置以清除药物, 而且液体量要比成人用的少。

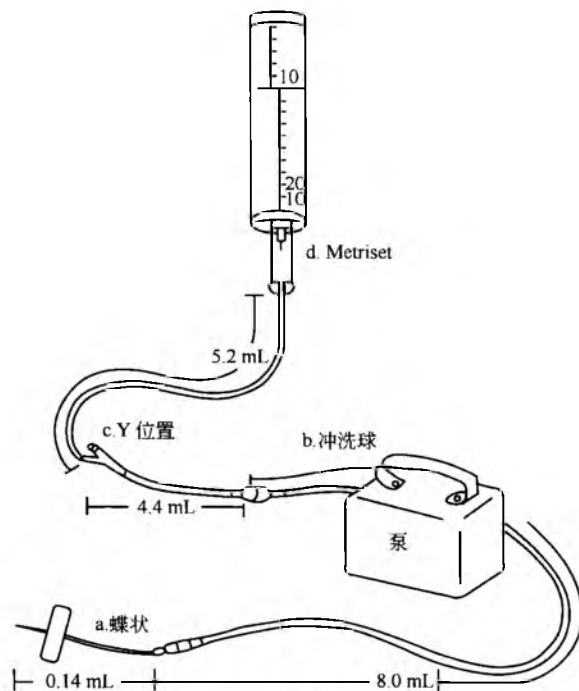


图 1 Gould 和 Roberts 使用的静脉给药系统<sup>[63]</sup>

#### 1.3 流体动力学

另一个影响药物输送的静脉输液管特征是流体动力学。输液管内的流动情况用层流和管道半径描述最为恰当。Poiseuille's 定律这样来描述输液管内的流动情况:

$$q_v = \frac{Pr^4}{4\eta L} \quad (2)$$

式中:  $q_v$  为流速;  $P$  为输液管的压力改变;  $r$  为输液管的半径;  $\eta$  为流体黏度;  $L$  为输液管的长度。

因此, 对于儿科患者的静脉给药, 应采用半径小于 0.06in 的小管, 而不是比较大的管子。使用小管子时, 长度较长不会明显地增加输液时间。

#### 1.4 滤器

滤器, 尤其是有很大储池的滤器, 有可能会延长或减少药物的输送。当药物和稀释液的密度差别较大并在滤器产生分层时, 这种现象比较容易出现<sup>[64]</sup>。因此应改选储池较小的滤器。

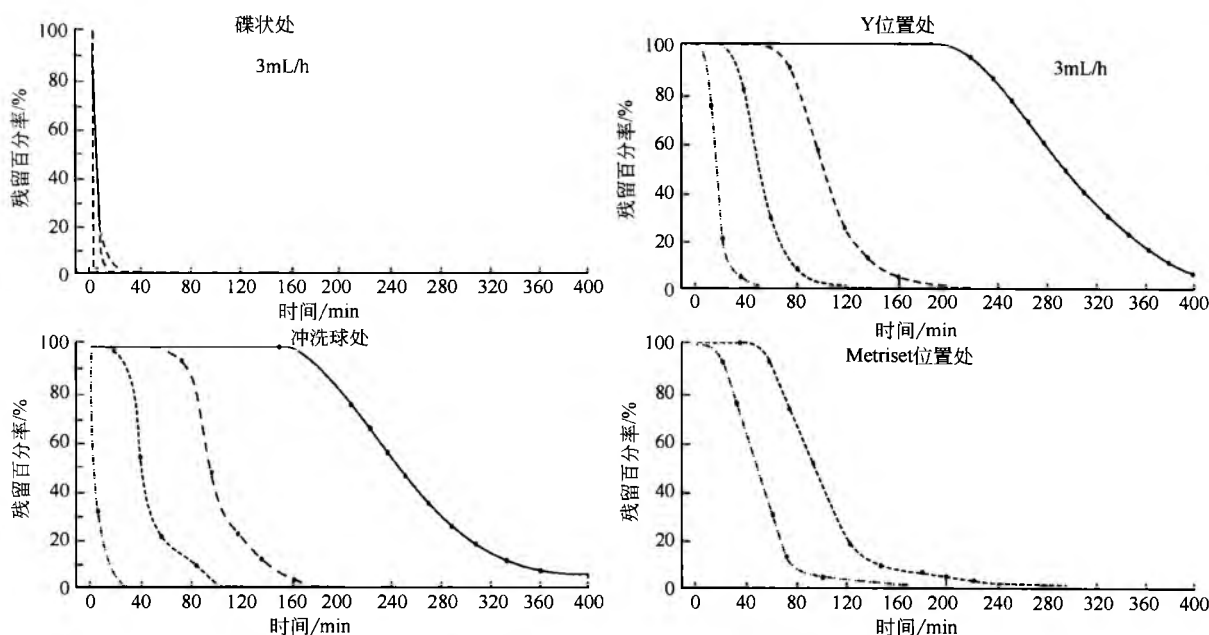


图2 庆大霉素静注速度对灌注曲线的影响<sup>[61]</sup>。灌注速度：——3mL/h；- - - - -10mL/h；· · · · ·25mL/h；- · - · -100mL/h

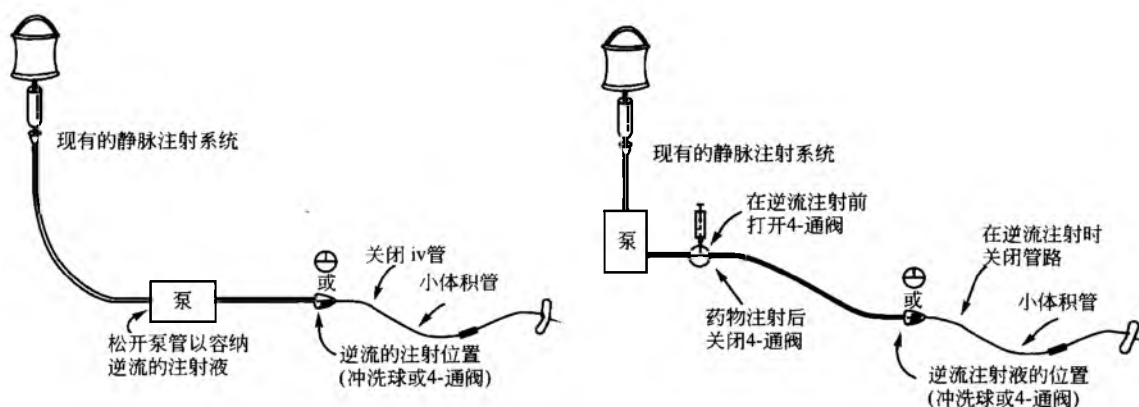


图3 逆流系统的示例 (Leff, R. D.; Roberts, R. J. Methods for intravenous drug administration in the pediatric patient. J. Pediatr. 1981, 98, 631—635)

## 2. 静脉给药的药物和流体方面的考虑

药物和药液的特征如药液体积、渗透压、pH 和密度可能影响静脉给药。给药频率和持续时间也很重要，因为输液系统要处理多种药物。这可能导致药物不相容和药物治疗时间安排的问题。

### 2.1 渗透压和 pH

当制备给儿科患者准备静脉给药溶液时，应该考虑到渗透压和 pH 问题。很多问题诸如婴儿组织刺激、注射疼痛、静脉炎、电解质紊乱，甚至心室出血都和药液渗透压高有关系<sup>[65]</sup>。药液应该尽可能和血清等渗。为了控制渗透压，可以采用静脉输注系统，用载体来稀释药液<sup>[65]</sup>，或者

可以通过调节静脉注射流速来获得一个特定的药物载体渗透压<sup>[61]</sup>。

### 2.2 密度

如果药物与稀释液的密度显著不同，药物可能会在过滤装置或在血管内分层。后者更容易发生，在静脉输注系统中粗管子、低流速，或者管子的特殊位置。密度的问题可以通过使用小管输液装置避免，这个装置能够促进混合。当给新生儿或婴儿低流速静脉注射时，这显得尤为重要。

## 3. 给药次数和周期；多重给药

为了确保多剂量给药是在适当的间隔或者为避免多重

给药时的配伍禁忌，可以在特定的时间内使用一个注射输液泵给药。这有助于避免更换静脉装置时部分药物残留在注射装置中，这种情形在手动给药技术中已经有过报道。可以使用多套注射泵同时将可配伍的药物通过 Y-位置或阀门给药。

#### 4. 静脉给药的类型

药物可能需要连续的静脉输注给药或是间隔给药（每 4、6 和 12 小时等）。手动方法需要将药物在某个注射部位（Y-位置、T-接口、阀门等）输入静脉注射系统，或在混合室中加到静脉注射溶液中，或加入到输液袋中靠重力输注。注射泵或其他机械装置也可以用于给药。

##### 4.1 手动给药

手动给药不像注射泵给药那样精确。它通常用于小剂量（ $<3\text{mL}$ ）、低流速（ $<20\text{mL/h}$ ）给药，或者药物快速推注时是安全的<sup>[61]</sup>。如果药物治疗是顺行给药，应该在微注射位置缓慢给药；小管子应该置于注射位置 and 患者之间并以此来减少药物到达患者所需的时间。Leff 和 Roberts<sup>[61]</sup>认为需要顺行技术给药的体积应该比较小，小于在注射位置和患者之间的管道的容积。如果给药体积太大而不能安全地使用顺行给药，但是静脉给药流速又太慢（ $<20\text{mL/h}$ ），可以使用逆行技术给药（图 3）。

##### 4.2 给药的机械装置

如果选用机械装置给药，合适的给药装置必须根据它的操作机理、流量的准确性、连续性和检测阻塞的能力来选择。其他的重要因素包括报警装置、易操作性、易清洁性，和防止儿童非故意的试图改变泵的设置的能力。注射泵适用于小体积给药和需要间断性给药的情况。选用机械装置给药通常是由于它能够间断给药，不论是大剂量还是小剂量，或是用于低流速的持续给药。给药可以和主要的静注液体流速分开，药物和那些液体在到达患者前的小管子中短距离混合（图 4）。除了比手动给药更精确外，注射泵能够将不相容的药物分别给药，减小多重给药的难度，减少给药时间。

#### 5. 关于静脉给药的更多内容

Reed 和 Gal<sup>[6]</sup>认为以下步骤能够减少小儿患者静脉注射时的问题：

- 标准化并记录给药的总时间；
- 记录所有用于冲洗静注药物的溶剂的体积；
- 标准化注射给药技术，特别是对那些治疗指数窄的药物；
- 使用能用的最大标准度量管；
- 间断性静脉给药时标准化稀释和注射体积，避免药物注入到中心插孔时溶液灌注的速度在很大的范围波动；
- 使用小体积静脉注射管，并且使用最远端给药。

另外，在给婴儿给药时需要的液体量要从婴儿营养液

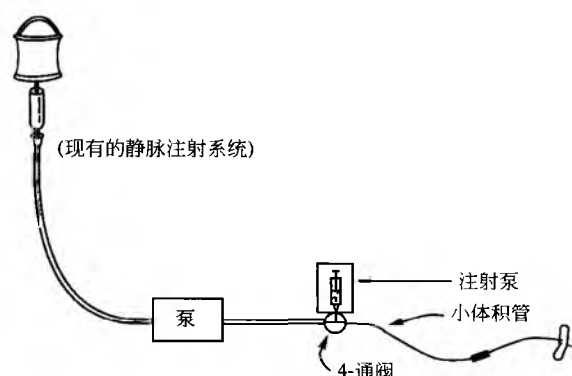


图 4 注射泵装置，药物输送与主要的输液流速分开，药物与输液在阀中混合，在小管子中的距离很短。（Leff, R. D.; Roberts, R. J. Methods for intravenous drug administration in the pediatric patient. J. Pediatr. 1981, 98, 631—635）

的量中扣除。那么，给药时的液体体积必须尽可能的严格限制，以便日常摄入量能够用于营养物。医护人员必须严密监测所有来源的液体摄入以防摄入过量，并且需要观察稀释过的药物的渗透压。

## 口服给药

口服给药途径是小儿患者用药的优先选择。如果患者因为呕吐、不能吞咽或是无口服给药剂型，使用其他途径给药。另外，对一些特殊问题采用在病患部位直接给药比较好，如吸入给药、眼部给药或是耳部给药。

### 1. 剂型

液体药物是小儿患者最普遍的口服药物，因为婴儿和幼儿患者还不能吞咽固体制剂。但是，已上市液体处方有限。如果无液体制剂，就需要药剂师或者医护人员或父母对固体制剂进行改良。如果固体制剂改变后，比如制成混悬剂，那么药物是否稳定，能稳定多久，是否和原来的剂型吸收不同？这是为小儿患者临时制备制剂所必须回答的几个问题。

不含酒精的产品不论何时都是给小儿患者的首选。另外，在口服制剂中的非活性成分或是辅料应该被鉴定。如果已知患者对某种辅料有不良反应或是有其他原因需要避免某种添加剂，鉴定非活性成分或辅料就显得特别重要。美国儿科学会药物委员会认为药品应该提供使用的辅料清单，这样可以使那些对某些辅料有不良反应的患者避免使用<sup>[55]</sup>。Kumar 等产品<sup>[60]</sup>附有非活性成分的清单（甜味剂、香料、染料和防腐剂），这些成分可以在很多液体制剂中找到，比如镇痛药、退烧药、抗组胺药、减充血剂、治疗咳嗽和感冒的药、止泻剂和茶碱制剂。Golightly 等已经综述了和许多非活性组分相关的不良反应<sup>[44,60]</sup>。

液体制剂口服给药能导致腹泻和其他胃肠症状，或者它们能够加重患者已有的胃肠不适。胃肠反应可与某些口



服液体的高渗透压有关。有人测定了不同口服液体制剂的渗透压<sup>[66]</sup>。因为制剂中含有丙二醇或各种糖（如蔗糖、甘露醇和葡萄糖），渗透压会显著提高（见表3）。比较不同品牌的液体药物是十分重要的，因为它们可能包含不同的辅料并且有不同的渗透压。

表3 口服液体制剂的渗透压<sup>[66]</sup>

液体制剂	渗透压（平均值±SEM）/（mOsm/kg）
丙二醇	8326±1467
含糖精药物	
沙丁胺醇	65
氟哌丁苯	47
混悬剂	2500±246
含糖药物 <sup>1)</sup>	5574±594

1) 蔗糖、甘露醇、葡萄糖和其他。

## 2. 缓释制剂

大多数药物在儿童体内的半衰期比成人短，因此儿童可能需要缓释制剂维持血药浓度在治疗范围之内。例如，当孩子有哮喘时可能需要缓释茶碱制剂。如果不吸烟的健康成人需要每12小时给药一次，孩子就需要每8小时给药一次，这样才能维持有效的血药浓度。当孩子选择缓释茶碱制剂时，必须记住，因为不同的释放特性，不能互换缓释茶碱制剂。为小儿哮喘患者选择的产品应该有可靠的吸收，治疗浓度变化尽量小，且不是由于是否进食就引起生物利用度差异的产品<sup>[67~69]</sup>。

### 2.1 临配液体制剂

因为许多药物无液体制剂，有时就需要制备粉末剂或混悬剂。关于小儿用液体制剂配制的很多有用信息已经由Nahata和Hipple整理出版（Nahata, M. C., Hipple, T. F. *Pediatric Drug Formulations*, 4th Ed. Harvey Whitney Books: Cincinnati, 2000）。

### 2.2 产品选择

口服给药的产品应该采用儿童容易使用的剂型。如果儿童的年龄足够大，能够参与决定过程，他能够表述他的喜好是液体、咀嚼片、片剂或是胶囊，当然所需的药物要有各种剂型和合适的剂量。如果需要以液体形式给药，选择产品应该考虑到产品的组成、口感和是否方便给药。应该考虑到的其他因素，还有不含酒精和染料，渗透压应该接近生理值（280~290 mOsm/kg）。产品中是否有辅料？如果有，它们是什么？浓度是多少？是否有小儿患者口服用药的生物利用度信息或是药动学方面的数据？如果有，是什么年龄段的呢？是否有临时配制药物的数据呢？

美国北卡罗来纳州的一名药剂师，Rebecca Chater指出应该把小儿患者纳入给药咨询，这样有助于让他们理解为什么要采用某种给药方法。在咨询过程中，需要使用语言

治疗而不是药物治疗<sup>[70,71]</sup>，因为在当今社会中后者有相关的含义。Wheeler认为在可能的情况下，尽量选择每天给药次数最少的产品，例如选择12h给药一次的而不是8h的，这样就不需要在上学期期间服药也不需要白天担心服药的事情。如果一定要在不在家的时候服药，她建议配药时应该有两个贴有标签的小瓶子或是一个大瓶配一个贴标签的小空瓶，这样可以在学校或日间护理时方便服药。

包括护士、药剂师和医生在内的人员应该给家长或是年龄稍大的孩子示范如何正确服药，并且提供适当的定量装置（口服用注射器、滴管、药勺或是可装吸头的小容量给药装置），这样才能保证家长能够准确量取液体药物。给药时不应该用家用的茶勺和汤勺，因为它们量取得不准确。Kraus和Stohlmeyer<sup>[72]</sup>解释一种新型的口服液体给药装置可以用于还在哺乳期的婴儿给药。

### 2.3 给药技术

以下的信息是帮助医护人员为家长和年龄稍大的孩子提供建议的，这些信息告诉他们药物治疗应该使用什么样的给药途径。

### 2.4 口服液体

婴幼儿使用的口服液体制剂应该充分摇匀，必要时需要使用恰当的装置。如果使用滴管或是口服注射器，应该让液体贴着内颊进入。在口腔前部给药，孩子可能会把药吐出来，在口腔的后部给药又有可能导致孩子有呕吐感或窒息。口服用注射器应该制成合适的大小，能够给药到内颊。

### 2.5 口服固体制剂

只有固体剂型的药物，可以临时配置成液体（如混悬剂）或者为口服方便而改进，如咀嚼。正如前面提到的，缓释制剂不能弄碎或是咀嚼。对于固体非缓释制剂，可以把它弄碎或是给药前少量进食。可以和药物混合的食物有苹果沙司、酸乳酪、布丁或即时布丁等，但是在婴儿处方中，不可在进食很多的情况下口服给药，因为婴儿的吸收不完全可能导致没有接受到应有的给药量。

## 其他途径

### 1. 肌肉注射给药

肌肉注射给药的吸收取决于注射部位，因为给药部位的肌肉群不同。例如，从三角肌的药物吸收比从股外侧肌快，股外侧肌处的吸收又远快于臀肌<sup>[16,17]</sup>。另外，低灌注或止血失代偿，经常会导致新生患儿或是婴儿的肌肉吸收减少。接受过骨骼肌麻痹试剂（如双哌雄双酯）的婴儿，也会因为肌肉收缩减少而降低吸收水平。另外，新生儿较小的肌肉组织能供给吸收的面积也是比较小的。

注射技术和针头的长度也会影响药物的吸收和血清浓

度。例如,使用长针头(1½ in 与 1¼ in 或 3.8cm 与 3.1cm)肌内注射地西洋可以使其在成人体内有较高的血药浓度<sup>[18]</sup>。因此,选择适当的给药部位和针头长度都是很重要的。可供肌内注射的部位包括腿部和股外侧肌、三角肌和臀部肌肉。

股直肌和中部第三股外侧肌可用于婴儿和较大的儿童的肌内注射给药<sup>[19]</sup>。这些部位比其他用于成人或较大儿童注射给药的肌肉群发育好,面积大。这种技术如图 5 所

示<sup>[19]</sup>。患者仰卧,针头应该扎入大腿上侧四分之一圆周上,与腿长轴保持 45°角,与垂直方向保持 45°角<sup>[19]</sup>。注射者需要按住接受注射的组织,以帮助固定肢体。Bergeson 等<sup>[19]</sup>推荐小儿患者注射使用 1in (2.5cm) 针,但是 Newton 等推荐使用 23~26 G 1½ in. (3.8cm) 针。婴儿用这种方式,给药的体积可以在 0.1~1mL,较大儿童和成人可注射的体积在 0.1~5mL<sup>[18]</sup>。

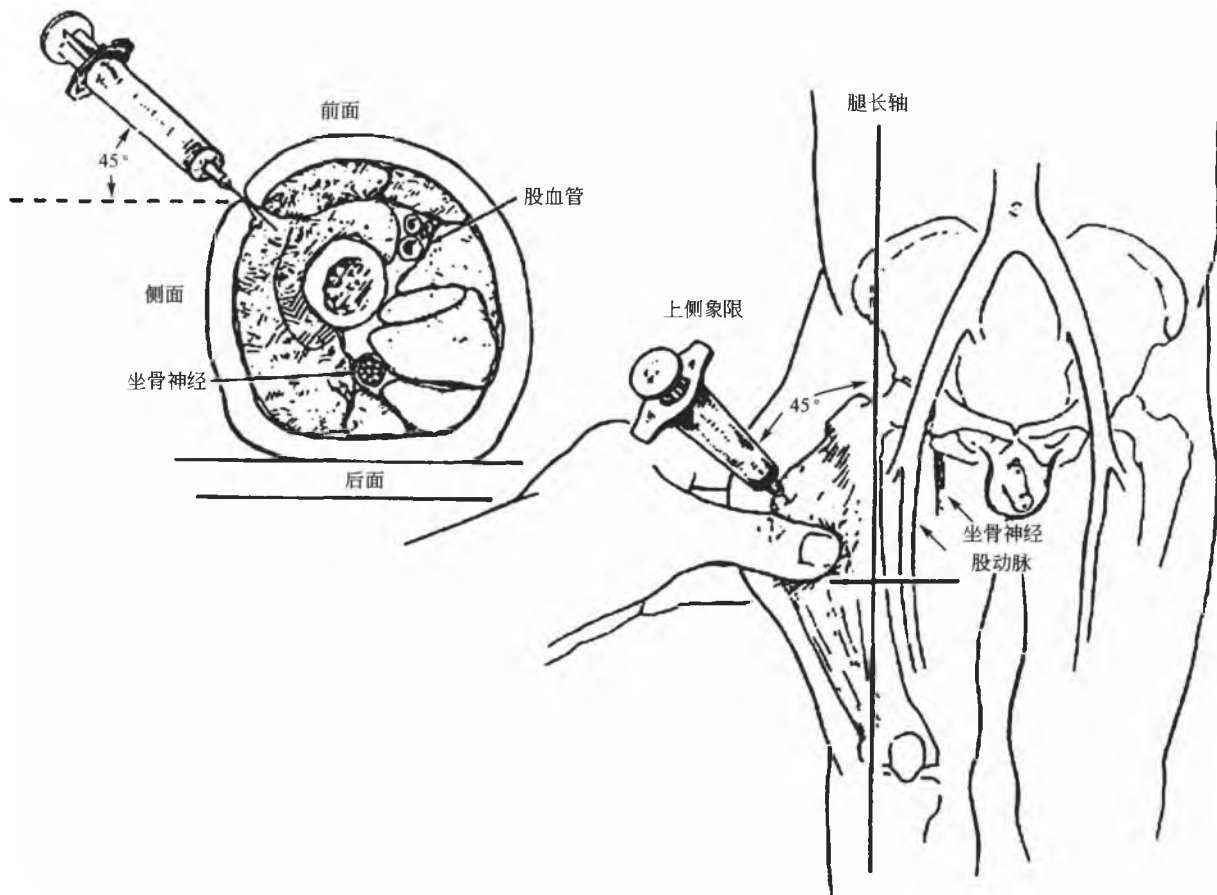


图 5 大腿前侧肌内注射技术<sup>[19]</sup>

臀部肌肉在婴儿和儿童的不断活动中发育很快。当孩子会走后,臀部就成为非常理想的注射部位<sup>[18,19]</sup>。对坐骨神经的损伤是与该注射部位相关的主要问题,婴儿发生的更普遍,因为他们缺少臀肌肉群<sup>[73]</sup>。甚至当注射技术很恰当时,也会引起臀部神经损伤,导致肌肉萎缩<sup>[19]</sup>。其他的神经包括阴部的、后股皮下的和下臀神经也会因注射技术不好而受到损伤<sup>[19]</sup>。Bergeson 等还讨论了该给药途径的其他副作用<sup>[19]</sup>。

图 6 显示了臀部给药的技术<sup>[19]</sup>(当然,也可使用其他技术)。所有的技术涉及确定上外侧象限(见图 6 的解剖标记)。确定上外侧象限后,针头应与患者躺着的平面成 90°角插入,而不是与患者的皮肤成 90°<sup>[19]</sup>。该部位适用于较

大的儿童,推荐用 1in 长的针<sup>[19]</sup>,较大的儿童和成人可注射的药液体积为 0.1~5mL<sup>[18]</sup>。

臀部(臀中肌和臀小肌)肌内注射的危险可能比臀大肌部位小<sup>[19]</sup>,该技术由图 7 所示<sup>[19]</sup>。臀部肌内注射者应先观察解剖标记(前上髂骨脊柱、髂骨嵴突起和髂关节上部)。将针插入这些标记间的三角区域,患者处于背卧位。注射部位可以通过将手掌置于髂关节,将食指置于前上髂骨脊柱,尽可能伸展食指和中指加以确定<sup>[19]</sup>。

三角肌可用于较大儿童的肌内注射,但不适用于婴儿和幼儿,因为他们的肌肉群有限。尽管没有并发症与该给药途径有关,但会发生神经损伤<sup>[21]</sup>。该技术由图 8 所示<sup>[19]</sup>。三角肌给药区完全可见,所以能观察到解剖学标



图6 臀部肌内注射技术<sup>[19]</sup>



图7 臀部肌注的 von Hochstetter 技术<sup>[19]</sup>

记。三角肌注射的针进入肌肉后应位于肩峰突和三角肌粗隆之间，以免损伤到下面的神经<sup>[19]</sup>。较大儿童和成人通过该途径可以给药 0.1~2mL<sup>[18]</sup>。推荐较大儿童的针长为 1in。

## 2. 皮下给药

皮下给药用于那些需要缓慢吸收的药物，例如胰岛素。它并不是普遍的儿科给药方式，只用于特殊药物。通常用 1/2 或 1in (1.25~2.5cm) 的针，注射体积为 0.1~1mL，取决于患者的体大小。

## 3. 经皮给药

在使用外用软膏、乳膏前要彻底清洁皮肤，在指定区



图8 三角肌内注射技术<sup>[19]</sup>

域均匀涂上薄层的软膏或乳膏，以减少毒性反应。用药的皮肤不能覆盖或密闭，除非医生要求这样做，否则会增加皮肤的吸收。要具体说明如何覆盖这部分皮肤。

## 4. 直肠给药

在使用直肠栓剂前，儿童的直肠部位要彻底清洁，婴儿或儿童应侧躺或俯卧。应将栓剂的包装除去，将尖端塞入直肠肛门括约肌以上。如果只使用半个栓剂，应将栓剂纵向分切。指套或手指裹上塑料膜用于给栓剂<sup>[74]</sup>。由于婴儿或幼儿不能将栓剂合适地置于直肠内，用药后将臀部捏紧数分钟，使栓剂就位<sup>[74]</sup>。

## 5. 耳部给药

耳用制剂在使用前应置于室温中，如果产品是混悬剂，使用前应轻轻振摇 10 秒钟<sup>[74]</sup>，儿童应侧卧，将耳垂轻轻向下拉使外耳道变直，对于成人将耳垂向上拉。然后将处方量的滴耳液滴到耳中，不要将滴管置于耳道中。患者应保持将耳倾斜姿势约 2 分钟，使药液留在耳中<sup>[75]</sup>，治疗另一只耳时，该过程可以重复。滴管尖使用后用于干净的纸擦拭。

## 6. 经鼻给药

对于成人，使用滴鼻剂或鼻喷雾剂的第一步是吹鼻子，清洁鼻道的黏液和其他分泌物，但婴儿或幼儿做不到这点。因此，鼻道用药前必须用球形注射器清洁。儿童应仰卧，婴儿或幼儿应平躺，头稍向后仰，将适量的药物置于每个鼻孔中，然后静待数分钟，使药物吸收。滴管应用热水冲洗后再放回药物容器中。

## 7. 眼部给药

眼用制剂在使用前应置于室温中，如果滴眼剂是混悬剂，用前要轻轻摇。稍大的儿童应按要求将头向后倾斜，

## E

使得滴眼液不会排入泪管。将眼睑分开,要求患者向上看。适量的药物用滴管滴入下眼睑,同时不要触及眼睑。用药后患者应向下看数秒钟,闭上眼睛数分钟将药物铺在眼球上,如果是全身用药,则药物可以吸收<sup>[76]</sup>。此外还推荐轻压内眼角至少1分钟,以保留药物<sup>[74]</sup>。如果用挤瓶,应轻轻地挤出适量的药物到眼部。每种方法中,滴管或挤瓶尖不应接触眼或皮肤,以免污染给药装置<sup>[76]</sup>。用后滴管不应冲洗,否则会污染滴管或药液。应阅读药品说明书中的特定信息。

另一种推荐用于儿童眼部给药的方法是患者保持闭眼,将药液滴至内眦,用药后将眼睁开<sup>[77]</sup>,约66%的药物可以吸收,此外该法会增加依从性,儿童更合作。

对合作的儿童应用眼膏时,儿童应将头向后仰并向上看。洗手后,施药者应将下眼睑向下轻拉,置入薄层的眼膏。然后将眼睛闭上1~2min,使药物铺展和吸收。在此过程中,眼膏用药器的尖部不能接触到眼睛。用药完成后,用药器的尖部应清洁并加盖<sup>[76]</sup>。应阅读药品说明书中的特定信息。

## 8. 吸入剂

对于使用吸入药物,如 $\beta_2$ -激动剂、皮质激素、抗病毒药和色甘酸钠等,患者和父母理解定量吸入剂或雾化器的机理非常重要。应阅读药品说明书中的特定信息。在使用药物罐时,要决定是否需要使用储雾器。

## 参考文献

- Nahata, M. C. Pediatric Drug Formulations: Challenges and Potential Solutions. *Ann. Pharmacother.* 1999, 33, 247-249.
- Food and Drug Administration. Regulations Requiring Manufacturers to Assess the Safety and Effectiveness of New Drugs and Biological Products in Pediatric Patients, 21 CFR Parts 201, 312, 314, and 601, Docket No. 97N-0165, U. S. Department of Health and Human Services; Washington, DC, August 17, 1997.
- FDA Modernization Act of 1997 Public Law 105-115 105th Congress, Washington, DC, 1997.
- Food and Drug Administration. List of Approved Drugs for Which Additional Pediatric Information May Produce Health Benefits in the Pediatric Population, Docket No. 98N-0056, U. S. Department of Health and Human Services; Washington, DC, May 20, 1998.
- USP Member Memorandum, U. S. Pharmacopoeia, Rockville, MD, June 22, 2000.
- Reed, M. D.; Gal, P. Principles of Drug Therapy. *Nelson Textbook of Pediatrics*, 16th Ed.; Behrman, R. E., Kliegman, R. M., Jenson, H. B., Eds.; W. B. Saunders Company; Philadelphia, 2000; 2229-2234.
- Reed, M. D. The Ontogeny of Drug Disposition: Focus on Drug Absorption, Distribution, and Excretion. *Drug Inform. J.* 1996, 30, 1129-1134.
- Milsap, R. L.; Hill, M. R.; Szeffler, S. J. Special Pharmacokinetic Considerations in Children. *Applied Pharmacokinetics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring*, 3rd Ed.; Evans, W. E., Schentag, J. J., Jusko, W. J., Eds.; Applied Therapeutics; Vancouver, WA, 1992; 10.1-10.32.
- Stewart, C. F.; Hampton, E. M. Effect of Maturation on Drug Disposition in Pediatric Patients. *Clin. Pharm.* 1987, 6, 548-564.
- Christie, D. L. Development of Gastric Function during the First Month of Life. *Infancy*; Leblenthal, E., Ed.; Raven Press: New York, 1981; 109-120.
- Cavell, B. Gastric Emptying in Preterm Infants. *Acta Paediatr. Scand.* 1979, 68, 725-730.
- Cavell, B. Gastric Emptying in Infants Fed Human Milk or Infant Formula. *Acta Paediatr. Scand.* 1981, 70, 639-641.
- Blumer, J. L.; Reed, M. D. Principles of Neonatal Pharmacology. *Pediatric Pharmacology: Therapeutic Principles in Practice*; Yaffe, S. J., Aranda, J. V., Eds.; W. B. Saunders Co.; Philadelphia, 1992; 164-177.
- Leblenthal, E.; Lee, P. C.; Heitlinger, L. A. Impact of the Development of the GI Tract on Infant Feeding. *J. Pediatr.* 1983, 101, 1-9.
- Kearns, G. L.; Reed, M. D. Clinical Pharmacokinetics in Infants and Children: A Reappraisal. *Clin. Pharmacokin.* 1989, 17 (Suppl. 1), 29-67.
- Greenblatt, D. J.; Koch-Weser, J. Intramuscular Injection of Drugs. *N. Engl. J. Med.* 1976, 295, 542-546.
- Evans, E. F.; Proctor, J. D.; Frantkin, M. J.; Velandia, J.; Wasserman, A. J. Blood Flow in Muscle Groups and Drug Absorption. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975, 17, 44-47.
- Newton, M.; Newton, D.; Fudin, J. Reviewing the Big Three Injection Routes. *Nursing* Feb 1992, 92, 34-42.
- Bergeson, P. S.; Singer, S. A.; Kaplan, A. M. Intramuscular Injections in Children. *Pediatrics* 1982, 70, 944-948.
- Sagraves, R.; Kamper, C. Controversies in Cardiopulmonary Resuscitation: Pediatric Considerations. *DICP, Ann. Pharmacother.* 1991, 25, 760-772.
- Ghadially, R.; Shear, N. H. Topical Therapy and Percutaneous Absorption. *Pediatric Pharmacology: Therapeutic Principles in Practice*; Yaffe, S. J., Aranda, J. V., Eds.; W. B. Saunders Co.; Philadelphia, 1992; 72-77.

22. American Academy of Pediatrics Committee on Drugs. Alternative Routes of Drug Administration—Advantages and Disadvantages (Subject Review). *Pediatrics* 1998, 100, 143—153.
23. McRorie, T. Quality Drug Therapy in Children: Formulations and Delivery. *Drug Inform. J.* 1996, 30, 1173—1177.
24. Ward, J. T., Jr. Endotracheal Drug Therapy. *Am. J. Emerg. Med.* 1983, 1, 71—82.
25. de Boer, A. G.; Moolenaar, F.; de Leede, L. G. J.; Breimer, D. D. Rectal Drug Administration: Clinical Pharmacokinetic Considerations. *Clin. Pharmacokinet.* 1982, 7, 285—311.
26. Job, V.; Swanson, W. W. mineral Growth of the Human Fetus. *Am. J. Dis. Child* 1934, 47, 302—306.
27. Widdowson, E.; Spray, C. M. Chemical Development in Utero. *Arch. Dis. Child.* 1951, 26, 205—214.
28. Morselli, P. L. Clinical Pharmacokinetics in Neonates. *Clin. Pharmacokinet.* 1976, 1, 81—98.
29. Reed, M. D.; Besunder, J. B. Developmental Pharmacology: Ontogenic Basis of Drug Disposition. *Pediatr. Clin. North Am.* 1989, 36, 1053—1074.
30. Kearin, M.; Kelly, J. G.; O'Malley, K. Digoxin "Receptors" In Neonates: An Explanation of Less Sensitivity to Digoxin in Adults. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1980, 28, 346—349.
31. Levy, G.; Khanna, N. N.; Soda, D. M.; Tsuzuki, O.; Stern, L. Pharmacokinetics of Acetaminophen in the Human Neonate: Formation of Acetaminophen Glucuronide and Sulfate in Relation to Plasma Bilirubin Concentration and D-Glucaric Acid Excretion. *Pediatrics* 1975, 55, 818—825.
32. Siegel, S. R.; Oh, W. Renal Function as a Marker of Human Fetal Maturation. *Acta Paediatr. Scand.* 1976, 65, 481—485.
33. Siber, G. R.; Smith, A. L.; Levin, M. J. Predictability of Peak Serum Gentamicin Concentration with Dosage Based on Body Surface Area. *J. Pediatr.* 1978, 94, 135—138.
34. Painter, M. J.; Pippenger, C. E.; Wasterlein, C.; Barnada, M.; Pitlick, W.; Carter, G.; Aberin, S. Phenobarbital and Phenytoin in Neonatal Seizures: Metabolism and Tissue Distribution. *Neurology* 1981, 31, 1107—1112.
35. Gilman, J. T.; Gal, P.; Duchowny, M. S.; Weaver, R. L.; Ransom, J. L. Rapid Sequential Phenobarbital Treatment of Neonatal Seizures. *Pediatrics* 1989, 83, 674—678.
36. Gilman, J. T. Therapeutic Drug Monitoring in Neonate and Paediatric Age Group. *Problems and Clinical Pharmacokinetic Implications. Clin. Pharmacokinet.* 1990, 19, 1—10.
37. Tserng, K. Y.; Takieddine, F. N.; King, K. C. Developmental Aspects of Theophylline Metabolism in Premature Infants. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1983, 33, 522—528.
38. Lonnerholm, G.; Lindstrom, B.; Paalzow, L.; Sedin, G. Plasma Theophylline and Caffeine and Plasma Clearance of Theophylline During Theophylline Treatment in the First Year of Life. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1983, 24, 371—374.
39. Dreifuss, F. E.; Santilli, N.; Langer, D. H.; Sweeney, K. P.; Moline, K. A.; Menander, K. B. Valproic Acid Hepatic Fatalities: A Retrospective Review. *Neurology* 1987, 37, 379—385.
40. Gershanik, J. J.; Boecler, B.; George, W.; Sola, A.; Leitner, M.; Kapadia, C. The Gasping Syndrome: Benzyl Alcohol (BA) Poisoning. *Clin. Res.* 1981, 29, 895A, Abstract.
41. Brown, W. J.; Buist, N. R. M.; Gipson, H. T. C.; Huston, R. K.; Kennaway, N. G. Fatal Benzyl Alcohol Poisoning in a Neonatal Intensive Care Unit. *Lancet* 1982, 1, 1250, Letter.
42. Gershanik, J. J.; Boecler, B.; Ensley, H.; McCloskey, S.; George, W. The Gasping Syndrome and Benzyl Alcohol Poisoning. *N. Engl. J. Med.* 1982, 307, 1384—1388.
43. Benda, G. I.; Hiller, J. L.; Reynolds, J. W. Benzyl Alcohol Toxicity: Impact on Neurologic Handicaps Among Surviving Very Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* 1986, 77, 507—512.
44. Golightly, L. K.; Smolinske, S. S.; Bennett, M. L.; Sutherland, E. W., III; Rumack, B. H. Pharmaceutical Excipients. Adverse Effects Associated with Inactive Ingredients in Drugs Products (Part I). *Med. Toxicol.* 1988, 3, 128—165.
45. American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn and Committee on Drugs. Benzyl Alcohol: Toxic Agent in Neonatal Units. *Pediatrics* 1983, 72, 356—358.
46. Centers for Disease Control. Neonatal Death Associated with Use of Benzyl Alcohol—United States. *MMWR* 1982, 31, 290—291.
47. Benzyl Alcohol May be Toxic to Newborns. *FDA Drug Bull.* 1982, 12, 10—11.
48. Hiller, J. L.; Benda, G. I.; Rahatzad, M.; Alen, J. R.; Culver, D. H.; Carlson, C. V.; Reynolds, J. W. Benzyl Alcohol Toxicity: Impact on Mortality and Intraventricular Hemorrhage Among Very Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* 1986, 77, 500—506.
49. Jadine, D. S.; Rogers, K. Relationship of Benzyl Alcohol to

- Kernicterus, Intraventricular Hemorrhage, and Mortality in Preterm Infants. *Pediatrics* 1989, 83, 153-160.
50. MacDonald, M. G.; Getson, P. R.; Glasgow, A. M.; Miller, M. K.; Boeckx, R. L.; Johnson, E. L. Propylene Glycol; Increased Incidence of Seizures in Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* 1987, 79, 622-625.
51. Glasgow, A. M.; Boeckx, R. L.; Miller, M. K.; MacDonald, M. G.; August, G. P. Hyperosmolality in Small Infants Due to Propylene Glycol. *Pediatrics* 1983, 72, 353-355.
52. Berkeris, L.; Baker, C.; Fenton, J.; Propylene Glycol as a Cause of an Elevated Serum Osmolality. *Am. J. Clin. Pathol.* 1979, 72, 633-636.
53. Fligner, C. L.; Jack, R.; Twiggs, G. A.; Raisys, V. A. Hyperosmolality Induced by Propylene Glycol. *JAMA* 1985, 253, 1606-1609.
54. Kulick, M. I.; Lewis, N. S.; Bansal, V.; Warpeha, R. Hyperosmolality in the Burn Patient: Analysis of an Osmolal Discrepancy. *J. Trauma* 1980, 20, 223-228.
55. American Academy of Pediatrics Committee on Drugs. "Inactive" Ingredients in Pharmaceutical Products. *Pediatrics* 1985, 76, 635-643.
56. Louis, S.; Jutt, H.; McDowell, F. The Cardiocirculatory Changes Caused by Intravenous Dilantin and Its Solvent. *Am. Heart J.* 1967, 74, 523-529.
57. American Academy of Pediatrics Committee on Drugs. Ethanol in Liquid Preparations Intended for Children. *Pediatrics* 1984, 73, 405-407.
58. Rumack, B. H.; Spoerke, D. G.; Poisindex Information System; Micromedex, Inc.; Denver, 2000.
59. Hoyumpa, A. M.; Schenker, S. Major Drug Interactions. Effect of Liver Disease, Alcohol, and Malnutrition. *Ann. Rev. Med.* 1982, 33, 113-149.
60. Kumar, A.; Rawlings, R. D.; Beaman, D. C. The Mystery Ingredients: Sweeteners, Flavorings, Dyes, and Preservative in Analgesic/Antipyretic, Antihistamine/Decongestant, Cough and Cold, Antidiarrheal, and Liquid Theophylline Preparations. *Pediatrics* 1993, 91, 927-933.
61. Leff, R. D.; Roberts, R. J.; Practical Aspects of Intravenous Drug Administration; American Society of Hospital Pharmacists; Bethesda, MD, 1992.
62. Nahata, M. C. Intravenous Infusion Conditions; Implications for Pharmacokinetic Monitoring. *Clin. Pharmacokinet.* 1993, 24, 221-229.
63. Gould, T.; Roberts, R. J. Therapeutic Problems Arising from the Use of the Intravenous Route for Drug Administration. *J. Pediatr.* 1979, 95, 465-471.
64. Rajchgot, P.; Radde, I. C.; MacLeod, S. M. Influence of Specific Gravity on Intravenous Drug Delivery. *J. Pediatr.* 1981, 99, 658-661.
65. Santeiro, M. L.; Segraves, R.; Allen, L. V. Osmolality of Small-Volume I.V. Admixtures for Pediatric Patients. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1990, 47, 1359-1364.
66. Bloss, C. S.; Sybert, K. Osmolality of Commercially Available Oral Liquid Drug Preparations. In ASHP Annual Meeting June 1991; 48, P-35 Abstract.
67. Maish, W.; Segraves, R. Childhood Asthma. *U. S. Pharmacist* 1993, Jan, 36-58, 105.
68. Hendeles, L.; Weinberger, M.; Szeffler, S. Safety and Efficacy of Theophylline in Children with Asthma. *J. Pediatr.* 1992, 120, 177-183.
69. Hendeles, L.; Weinberger, M. Selection of a Slow-Release Theophylline Product. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1986, 78, 743-751.
70. Martin, S. Catering to Pediatric Patients. *Am. Pharm.* 1992, 32, 47-50.
71. Chater, R. W. Pediatric Dosing; Tips for Tots. *Am. Pharm.* 1993, 33, 55-56.
72. Kraus, D. M.; Stohlmeyer, L. A.; Hannon, P. R. Infant Acceptance and Effectiveness of a New Oral Liquid Medication Delivery System. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* 1999, 56, 1094-1101.
73. Gilles, F. H.; Matson, D. D. Sciatic Nerve Injury Following Misplaced Gluteal Injection. *J. Pediatr.* 1970, 76, 247-254.
74. Administration Guides. *Drug Store News* 1993, Dec 13, 7-14.
75. Otic Preparations Monograph. Facts and Comparisons; Olin, B. R., Ed.; J. B. Lippincott Co.; St. Louis, November 1992; 517.
76. Topical Ophthalmic Monograph. Facts and Comparisons; Olin, B. R., Ed.; J. B. Lippincott Co.; St. Louis, May 1993; 477b-477c.
77. Smith, S. E. Eyedrop Instillation for Reluctant Children. *Br. J. Ophthalmol.* 1991, 75, 480-481.

## 参 考 书 目

- Benitz, W. E.; Tatro, D. S.; Davis, S., Eds. *The Pediatric Drug Handbook*, 3rd Ed.; Harcourt Health Sciences Group; St. Louis, 1995.
- Leff, R. D.; Roberts, R. J. *Practical Aspects of Intravenous Drug Administration*; American Society of Health-System Pharmacists; Bethesda, 1992.
- Nahata, M. C.; Hipple, T. F. *Pediatric Drug Formulations*, 4th Ed.; Harvey Whitney Books; Cincinnati, 2000.
- Nelson, J.; Bradley, J. *Nelson's 2000-2001 Pocket Book of Pediatric Antimicrobial Therapy*, 14th Ed.; Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, 2000.

Phelps, S.; Hak, E. Guidelines for Administration of Intravenous Medications to Pediatric Patients, 6th Ed.; American Society of Health-System Pharmacists: Bethesda, 1999.

Siberry, G. K., Iannone, Eds.; Harriett Lane Handbook, 15th Ed.; Mosby: St. Louis, 2000.

Taketomo, C. K.; Hodding, J. H.; Kraus, D. M.; Pediatric

Dosage Handbook, 5th Ed.; Lexi-Comp., Inc.: Hudson, OH, 2000.

Young, T.; Mangum, B.; Neofax 2000, 13th Ed.; Blackwell Science: Oxford, 2000.

(祝 林 译)

E

## E

## 耳用制剂

William H. Slattery III

House Ear Institute, Los Angeles, California, U. S. A.

## 引言

耳用制剂常用于治疗外耳疾病,偶尔也用于中耳。耳疾病包括耵聍栓塞、外耳道皮肤炎及传染过程。外耳炎(游泳者的耳朵)和慢性中耳炎占了耳朵感染性疾病的大多数。本章概述了耳用制剂、用途、目前的产品和未来的发展领域。

## 耳的解剖和生理

图1为正常耳的示意图,包括外耳道、中耳腔、听腔和耳蜗。外耳道的外侧三分之二为软骨结构,中间或内侧三分之一为骨结构。中间的三分之一骨由薄层的皮肤覆盖,外侧的三分之二也有皮肤覆盖,但也含有皮脂腺的厚层软组织。外部声音通过外耳道传到鼓膜,鼓膜的振动将声波传到三块中耳听小骨,从而将声波传到内耳蜗,从耳蜗再传到神经脉冲。此脉冲再送达大脑,产生听觉。

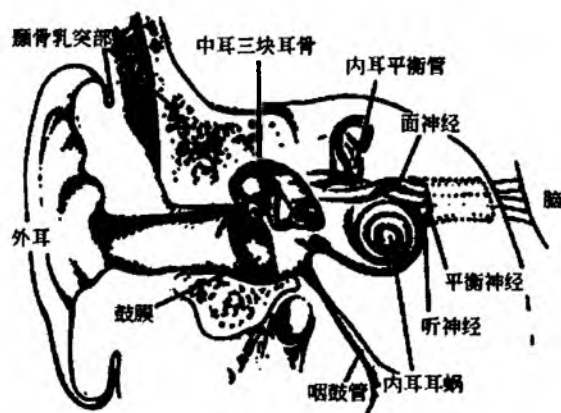


图1 耳示意图

正常的外耳道有多个机制保护其免于感染。S形外耳道解剖形态保护其在正常情况下免于外来物体的伤害。耳屏首先提供保护,耳道内毛囊上的毛发阻止空气中的灰尘进入。

外耳道的皮肤通常是酸性的,pH介于4~5。外耳道上皮细胞产生的角蛋白含有脱屑上皮细胞,其等电点为pH 5,任何高于此值的状况会引起角质层的水化,致使易于受病原有机体的侵害。由于绝大部分外耳炎和慢性重度耳炎的致病有机体在pH 7.2~7.6的碱性环境中生长最好,外耳道的酸性pH对很多这些致病体有杀菌或抑菌作用。因此天然的低pH有助于预防耳感染。任何对pH平衡的改变

(如游泳)会增加细菌感染的危险。

汗和油脂腺产生的酶有抑菌活性。如溶菌酶,是由汗腺分泌的酶,能溶解表皮葡萄球菌和其他耳道皮肤表面的革兰氏阳性有机体。油脂腺分泌的脂质的降解物不饱和脂肪酸,具有抗革兰氏阴性菌和真菌的活性<sup>[1]</sup>。

完整的鼓膜能保护中耳腔正常的无菌状态而免于致病菌感染。破损的鼓膜或鼓膜造孔插管会使得外部细菌进入中耳腔。

耵聍,又称耳蜡,产生于外耳道的外侧三分之一,由上皮层的角蛋白、酶和汗腺、皮脂腺生成的不饱和脂肪酸组成。通过形成油性的机械屏障,在外耳道皮肤上起到保护作用,有抑制细菌和真菌的作用。它还含有毛发和外耳道的油脂腺和耵聍腺的分泌物。这些分泌物中有糖蛋白、脂质、透明质酸酶、唾液酸、硫酸肝素、溶酶体酶类、免疫球蛋白<sup>[2]</sup>。耵聍总的化学组成包括饱和及不饱和长链脂肪酸、醇类、角鲨烯和胆固醇<sup>[3]</sup>。

## 耳炎的病理和细菌学

开发治疗外耳疾病的新药和装置需要理解病理生理学和引起耳朵炎症和感染的最常见有机体的知识。

急性外耳炎(游泳耳病)为外耳道的炎症,最常见的是由局部创伤引起的,即棉签、指甲或其他外部物体磨损了外耳道皮肤。其他诱发因素包括<sup>[4]</sup>:

- 长时间暴露于水或湿气,导致耳道上皮组织的浸渍;
- 油脂腺管道的堵塞,降低了抗感染的能力;
- 在湿度约80%时上皮角质层吸收水汽;
- 在高湿度环境中室温升高;
- 外源性有机体通过受损表皮的裂口入侵;
- 有耵聍;
- 有碱性分泌物。

外耳炎的炎症前临床症状表现为外耳道搔痒及油脂腺的堵塞,据称是由于外耳道脂质损失,以及由此引起的角质层水分含量增加导致的细胞间水肿。急性炎症阶段表现为抓破引起的损伤。细菌通过这种方式进入表层。临床产生一系列的表现,从耳道皮肤的轻微红肿,其表现为澄清浆液的渗出,到强烈的疼痛,严重的耳道水肿,有脓液排出。慢性炎症阶段也有人描述,其特征为皮肤的增厚、湿疹化、苔藓化,及浅表皮肤的溃疡<sup>[4]</sup>。

外耳道的浅表真菌感染导致耳真菌病,通常因为下层的细菌感染或存在潮湿的耵聍。真菌初始植入角质层,处于静止状态数天至数周,然后在皮肤的表面生长,引起炎



症。开始时患者通常抱怨搔痒,最初时唯一的临床症状是红肿。后来,患者出现真菌群,由具有小黑孢子的茸毛灰膜包裹的蜡状碎屑组成<sup>[5]</sup>。

慢性化脓性中耳炎为中耳的炎症,鼓膜穿孔和鼓膜造孔插管可引流致外耳道。黏膜和黏膜下层血供增加,以及急性和慢性的细胞炎症是其标志。也常见肉芽组织、纤维化和骨延长。肉芽组织含有中性粒细胞和血浆细胞,以及一些血管和成纤维细胞。

绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌为最常见的引起急性耳炎的有机物。变形菌引起相关的慢性炎症。黑曲霉素和白色念珠菌为最常见的引起耳真菌病的真菌。还可见毛霉菌、酵母样菌、皮肤癣菌和放线菌属<sup>[5]</sup>。

慢性化脓性中耳炎患者分泌物的培养表明最常见的有机物是绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌,这通常是由多种有机物引起的混合感染<sup>[7,8]</sup>,对抗生素有较强的耐药性。

在对于 119 例慢性化脓性中耳炎患者的研究中, Papstavros 注意到以前使用过外用庆大霉素治疗过的患者大都有耐庆大霉素的有机物 (81%)<sup>[9]</sup>。Brook 培养了 54 名慢性化脓性中耳炎的儿童的分泌物,结果表明 70% 的患者有产生  $\beta$ -内酰胺酶的细菌。在 37 名携带  $\beta$ -内酰胺酶的细菌的患者中,21 人以前口服毒霉素或头孢菌素进行过治疗。该项研究中的所有儿童以前均没有用过滴耳剂。双侧耳有渗出的儿童中的 39% 两侧的微生物不同。这两项研究表明慢性中耳炎口服或局部用抗生素治疗可能产生耐药性微生物。

## 耳用制剂

正常的外耳道表皮脱落物使耳垢向耳道口移动,任何影响自我清除机制的因素都会引起耳垢栓塞。体外实验证实当耳垢的主要成分角质细胞水化时,会导致这些细胞的水解,从而使内耳垢溶解<sup>[2]</sup>。与该发现一致,含水制剂比有机物、非水制剂更适合溶解耳垢<sup>[2,10,11]</sup>。在使用任何耳垢溶解制剂前,首先要确保有完整的鼓膜,以防止两种可能的并发症的发生。将这种制剂导入中耳常会引起疼痛,并且耳垢及其角质细胞一旦进入中耳腔会引起胆脂瘤,它是良性肿瘤,但会破坏表皮生长,故需要外科手术。

我们可以从耳道滴入矿物油或甘油,很轻易地将结实的耳垢取出。这些液体可软化耳垢,促使角质塞与表皮分离,推动耳垢向耳道口移动。向耳道滴入过氧化氢是另一种简便方法。产生的氧气既可以软化耳垢又可机械地将其与耳道表皮分离。过氧化氢分解产生水和氧气,湿润耳道,因此可能会引起急性外耳道炎。

但这些简便的方法并不总是有效的。现在开发的耳垢溶解制剂有助于溶解耳垢,并帮助其移出。严重情况下,需要用洗液冲洗耳道或物理取出。

这些年人们试验了大量含有水或有机溶剂的耳垢溶解制剂 (表 1)<sup>[12]</sup>。现在,最常见的非处方药含有过氧化氢脲和甘油。后者软化蜡状物,而过氧化氢分解产生的氧气使组织碎片疏松。通常这种制剂须连续使用几天后才能将耳

垢软化,软化的耳垢可被冲洗液或吹气体带到外耳道。

表 1 耳垢溶解产品

产品	耳垢溶解剂	其他组分
Cerumenex	三乙醇胺多肽油酸盐 凝结物	丙二醇 三氯叔丁醇 (0.5%)
Debrox 滴剂	过氧化氢脲 (6.5%)	甘油 丙二醇 枸橼酸
Murine 滴耳剂	过氧化氢脲 (6.5%)	乙醇 (6.3%) 甘油

三乙醇胺多肽油酸盐在丙二醇中的凝结物是一种处方药 (Cerumenex),其作用机制是软化耳垢,润滑耳道<sup>[2]</sup>。通常只用 15~20min 便起作用,但仍需物理手段取出耳垢。这种制剂有时会产生严重的皮肤过敏,最好在医务室使用。

多库酯钠虽然并非以一种耳垢溶解制剂上市,但却非常有效<sup>[13]</sup>。多库酯钠更常用作水溶性大便软化剂,用于耳垢可以使角质细胞膨胀溶解。它在溶液中可游离出氢氧根离子,呈碱性<sup>[2]</sup>,滴入耳道中 10~15min 起作用,崩解后的碎片可以很容易被清洗出来或物理取出。

理想的耳垢溶解制剂 (低渗、碱性的水溶液) 还未开发出来,它应该能溶解耳垢的角质细胞并且能使硬块崩解<sup>[2]</sup>。

与耳垢溶解制剂形成对比的是,有些患者需要用于治疗皮肤干燥、湿疹、银屑病和慢性外耳道炎的耳垢替代产品,但目前仍然没有满足这些需求的产品。

## 消毒剂

消毒剂通常用于治疗外耳道疾病,与耳垢溶解剂相同,使用之前应该确保患者的鼓膜完整。某些消毒剂通常是用于耳朵的外科预防。上市的耳用消毒制剂只有乙酸溶液。

乙酸溶液 (通常 2%~5%) 具有抗细菌和抗真菌的活性。它对绿脓杆菌、葡萄球菌、 $\beta$ -溶血性链球菌、念珠菌属以及曲霉菌都有抑制作用,有机体对其不产生抗药性<sup>[14]</sup>。乙酸溶液用于外耳道不产生刺激性和过敏反应,但一旦其流入中耳腔,则产生疼痛感。主要缺点是滴用时发出醋样气味。乙酸溶液还可以和乙酸铝、类固醇联用产生抗炎和止痒的作用<sup>[15]</sup>。乙酸可诱导角质层增厚,增加了耳道中与此感染相关的脱落物量,也会使耳道中感染复杂化,恢复期延长。

常用的消毒制剂如聚维酮碘 (Betadine<sup>®</sup>)、葡萄糖酸洗必泰 (Hibiclens<sup>®</sup>) 和六氯酚 (pHisohex<sup>®</sup>),都可用于耳外科预防。聚维酮碘是最常用的制剂,它有很宽的抗菌谱,对微生物群和病毒都有效。在外科预防时应避免其进入中耳,因为它在愈合过程中可以限制纤维元细胞移动。对碘过敏的外科手术患者可以使用洗必泰或者六氯酚。碘过敏患者更适合使用洗必泰,它抗菌谱宽,对革兰氏阳性

菌和阴性菌都有效。六氯酚对革兰氏阳性菌的作用强于阴性菌，而且脓液可降低其活性<sup>[15,18]</sup>。

异丙醇主要用来清洗易患外耳道炎症的患者的耳道，它主要作为游泳者游泳后的一种预防制剂。尽管异丙醇的抗菌谱广，但主要作为外耳道的干燥剂使用。它能将游泳后耳道中的水排出，但其一旦进入中耳会引起剧烈疼痛，因此不能为鼓膜穿孔者使用。

龙胆属植物紫罗兰和硫柳汞可以治疗真菌感染疾病，后面再讨论。

## 抗真菌制剂

大多数耳部感染是由抗生素治疗引起的，简单地清洁外耳道以及停止药物治疗都可以改善病情，然而主要的和持续的感染则需要耳部抗真菌制剂（表2）。

表2 耳真菌病制剂

产品	抗真菌剂	其他组分
耳用碱式乙酸铝溶液	乙酸（2%）	硫酸铝 硼酸
VoSol 耳用溶液	乙酸（2%）	丙二醇（3%） 氯化苯乙胺
VoSol HC 耳用溶液	乙酸（2%）	氢化可的松（1%） 丙二醇（3%） 氯化苯乙胺
Fungizone 洗剂	两性霉素 B（3%） 硫柳汞	丙二醇
克霉唑溶液	克霉唑	丙二醇
Mycelex 溶液	克霉唑	丙二醇
甲酚溶液	乙酸间酚酯（25%）	丙二醇 异丙醇（25%）
龙胆紫溶液	龙胆紫（1%）	乙醇（10%）
硫柳汞	硫柳汞 1:1000	
Monistat-Derm 洗剂	咪康唑（2%）	Pegoxol 7 硬脂酸酯 矿物油 安息香酸
制霉菌素混悬剂	制霉菌素（100 000U/mL）	无

1%克霉唑溶液是治疗耳真菌病的最有效的外用杀菌剂，它对耳部真菌感染最常见的念珠菌属、曲霉菌属都有活性。它通过干扰真菌细胞的麦角固醇的生物合成而起作用，对因皮肤真菌以及念珠菌引起的顽固性病例和慢性病例都有效<sup>[17]</sup>。

两性霉素 B 也是一种有效的耳用制剂，它主要以洗剂或粉末形式（下面介绍）应用，其抗菌谱广，对引起耳真菌病的各种真菌都有效。外用耐受性好，只有轻微的皮肤刺激的副作用报道。其透皮吸收差<sup>[18]</sup>。

制霉菌素和咪康唑与两性霉素 B 具有相似的抗菌谱，对普通酵母和真菌引起的耳真菌病有效<sup>[17]</sup>。制霉菌素也偶

尔制成耳滴剂，咪康唑则很少用作滴剂，只用作霜剂。耳道应用很难不影响听力。

乙酸间酚酯是甲酚的一种衍生物，已作为耳用抗真菌药上市。它对念珠菌和曲霉菌具有高活性。可用棉球蘸取溶液涂于耳道上或用作滴剂，由于门诊患者方便使用，被认为是治疗耳真菌感染的首选药物。与龙胆紫和硫柳汞不同，它使用时无色。但其可以引起耳郭湿疹，仅限于外耳道<sup>[16,19]</sup>。

龙胆紫主要用于住院患者的真菌感染，它对大多数革兰氏阳性菌具有抑制和杀灭作用。在手术显微镜的协助下，用棉球蘸取溶液涂于外耳道。这种化合物是一种很强的染色剂，盲目使用会将外耳道涂色，因此患者自己不能擅自使用<sup>[16]</sup>。

硫柳汞也外用于治疗耳真菌病，它不仅是一种抑菌剂，同时体外试验显示，它也是一种优良的杀菌剂，用于酵母菌和真菌引起的耳真菌病<sup>[16,17]</sup>。

有时需要从耳真菌病的顽固性病例和慢性病例中取样，进行培养，可能是由不常见的真菌引起的，应基于培养结果选择合适的耳用制剂。全身用的抗真菌药很少用于耳真菌感染，除非与全身的真菌感染有关。

治疗耳真菌病的外用制剂，应该在无鼓膜穿孔的情况下使用。

## 抗菌滴剂

作为一类药物，抗菌滴剂是医生开的最多的耳用制剂（表3），表3列出的大部分制剂是几种抗生素和类固醇的联用。可以添加乙酸或乙醇以增加抗菌活性。一些制剂将乙酸作为主要的抗菌剂，这些制剂大多 pH 较低，介于 3~5，与正常外耳道的 pH 相似。

当患者有鼓膜穿孔时，应该谨慎使用抗菌滴耳剂，因为它可能具有潜在的耳毒性。在出现脓液的情况下，首先清洁耳道再滴入滴剂。因为脓液会阻止滴液渗入皮肤，从而达到治疗耳部感染的目的。因此，清洁脓液是非常重要的。

新霉素和多黏菌素 B 是耳制剂中两种最重要的抗菌剂，新霉素对很多革兰氏阳性菌和阴性菌都有抗菌作用，如引起外耳炎和慢性耳炎的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、变形菌、肠杆菌属、克雷白氏菌、流感杆菌，对厌氧菌没有生物活性。很多假单胞菌属菌株对其具有耐药性，有 6%~8% 的患者外用治疗后引起皮肤过敏<sup>[20]</sup>。

多黏菌素 B 和 1947 年发现的黏菌素 E 具有相似的抗菌谱，都仅限于革兰氏阴性菌，对绿脓杆菌尤其敏感。其他对其敏感的革兰氏阴性菌还有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、变形菌、肠杆菌属、克雷白氏菌、流感杆菌。这种药物可以与细胞膜的磷脂发生作用，影响细菌的细胞，很少引起过敏。但这种抗生素吸收很差，即使用于裸露的表皮也是如此<sup>[21]</sup>。

表 3 耳用抗菌制剂

产 品	组 分				
	抗菌剂	抗炎剂	酸	消毒剂	其 他
氯霉素滴耳剂	氯霉素				丙二醇
Cipro HC 滴耳剂	环丙沙星	氢化可的松 (1%)	盐酸	乙醇	聚乙烯醇 乙酸钠 多烯卵磷脂胆碱 90HB 聚山梨酯
Coly-Mycin S 滴耳剂	黏菌素 E 新霉素	氢化可的松 (1%)	乙酸	硫柳汞 <sup>1)</sup>	Thonzonium 聚山梨酯-80 乙酸钠
Cortisporin 耳用溶液	多黏菌素 B 新霉素	氢化可的松 (1%)	盐酸		甘油 丙二醇
Cortisporin 耳用混悬剂	多黏菌素 B 新霉素	氢化可的松 (1%)	硫酸 <sup>2)</sup>	乙醇 硫柳汞 <sup>1)</sup>	丙二醇 聚山梨酯-80
Cortispori-TC 耳用混悬剂	黏菌素 E 新霉素	氢化可的松 (1%)	乙酸	硫柳汞 <sup>1)</sup>	Thonzonium 溴 聚山梨酯-80
Floxin 滴耳剂	氧氟沙星		盐酸		氯化苯乙铵
Lazersporin-C 溶液	多黏菌素 B 新霉素	氢化可的松 (1%)			
Otic Domeboro 溶液			硼酸		硫酸铝 碳酸钙
Otobiotic	多黏菌素 B	氢化可的松 (0.5%)	硫酸 <sup>2)</sup>		丙二醇 甘油
Pedi-Otic 混悬剂	多黏菌素 B 新霉素	氢化可的松 (1%)	硫酸 <sup>2)</sup>	乙醇 硫柳汞 <sup>1)</sup>	单硬脂酸甘油酯 矿物油 聚氧乙烯单硬脂酸酯 丙二醇
Pyocidin-Otic	多黏菌素 B	氢化可的松 (0.5%)	盐酸 <sup>2)</sup>		丙二醇
Star 耳用溶液			硼酸		丙二醇
Tridesilon 耳用溶液		丙缩羟强龙 (0.05%)	枸橼酸		丙二醇 乙酸钠
VoSol 耳用溶液			乙酸		丙二醇 氯化苯乙铵
VoSol HC 耳用溶液		氢化可的松 (1%)	乙酸		丙二醇 氯化苯乙铵

1) 防腐剂。

2) 调节 pH。

氯霉素对某些慢性耳炎有治疗作用, 虽然它对绿脓杆菌活性不强, 但对其他的引起慢性炎症的病原体 (如金黄色葡萄球菌、肠杆菌属、流感杆菌、脆弱类杆菌、梭状芽孢杆菌、克雷白氏菌和变形菌的某些菌株) 有效<sup>[15, 22]</sup>。但曾有报道局部使用氯霉素引起血液异常和死亡, 并且外用时局部皮肤会出现过敏反应<sup>[12]</sup>。尽管氯霉素很少用于一线治疗, 但仍用于难治愈的慢性炎症, 尤其是感染敏感病原体后。

尽管具有相似的抗菌组成, 但耳用制剂在给药介质和 pH 上各有不同。Cortisporin 耳用溶液酸性最强, 而 Coly-Mycin S 滴耳剂的 pH 为 5, 是该组中 pH 最高的<sup>[12, 23]</sup>。这些制剂的低 pH 以及其中作为消毒剂的乙醇, 使其接触中耳后会产生灼烧感。

Otobiotic 和 Pyocidin 滴耳液仅含多黏菌素 B, 可用于对新霉素过敏的患者, 但它们仅用于少数特殊病例。因为多黏菌素 B 对革兰氏阳性菌 (如链球菌属) 和革兰氏阴性

菌（如变形菌）没有活性。

最近开发了两个新的氟喹诺酮类制剂。Floxic 滴耳液和 Cipro HC 最近已经通过 FDA 批准用于治疗外耳道疾病。环丙沙星和氧氟沙星是这两种制剂中的活性成分，这两种抗菌剂抗菌谱广，尤其对于引起外耳道炎的金黄色葡萄球菌、链球菌属、假单胞菌属肠杆菌有活性。此外 Cipro HC 还含有羟基皮质酮，更增强了其抗炎活性，其低 pH 是治疗外耳炎的理想药物。Floxic 滴耳液含有 pH 缓冲液，是 FDA 批准用于治疗中耳疾病的滴剂。这些新药物用于治疗的一个困难是它们并不在医疗保险的范围之内，更适合于一线治疗使用。

上述的耳用抗菌制剂对大多数外耳炎病例和某些慢性

化脓性炎症病例具有满意的治疗效果。但对少数产生耐药性、药物诱发皮肤过敏和鼓膜穿孔的患者中耳腔用药作用有限。鼓膜穿孔的患者使用耳用制剂会产生疼痛感，因为它的低 pH 和乙醇对皮肤具有刺激性。同时，我们也应该考虑新霉素、多黏菌素 B 和黏菌素 E 的耳毒性，很多耳鼻喉科医生更喜欢使用外用眼科制剂<sup>[23]</sup>。眼用制剂在本书的眼用药处方的用药一章介绍。

可用于耳治疗的眼科制剂列在表 4 中<sup>[12]</sup>，它们与其他耳用制剂的不同之处是 pH 中性，不含乙醇。例如，氯霉素眼用制剂与其耳用制剂不同，含 pH 缓冲，并含有氢化可的松。类似的，Cortisporin 眼用制剂与耳用制剂的主要区别是中性 pH。

表 4 常用于耳部的眼用抗菌制剂

产 品	组 分				
	抗菌剂	抗炎剂	酸	消毒剂	其 他
氯霉素滴眼液	氯霉素		硼酸		缓冲液
氯霉素氢化可的松	氯霉素	氢化可的松 (2.5%)	硼酸		缓冲液 胆固醇 甲基纤维素 氯化苯乙胺 <sup>1)</sup>
Ciloxan	环丙沙星		盐酸		氯化苯乙胺 <sup>1)</sup> 乙酸钠 甘露醇 EDTA
Cortisporin 眼用溶液	多黏菌素 B 新霉素	氢化可的松 (1%)	盐酸	十六醇	矿物油 丙二醇 聚氧乙烯单硬脂酸酯 单硬脂酸甘油酯
Gantrisin 眼用溶液	磺胺异噁唑				硝酸苯汞
Garamycin 眼用溶液	庆大霉素				磷酸氢二钠 磷酸二氢钠 氯化苯乙胺 <sup>1)</sup>
Netimyd 眼用溶液	磺胺醋酰	泼尼的松		硫代硫酸盐 乙醇	磷酸钠 四丁酚醛 EDTA 氯化苯乙胺 <sup>1)</sup>
Neosporin 眼用溶液	多黏菌素 B 新霉素 短杆菌肽			乙醇硫柳汞 <sup>1)</sup>	丙二醇 聚氧乙烯-聚氧丙烯复合物
Polytrim 眼用溶液	硫酸甲氧苄啶 多黏菌素 B		硫酸 <sup>2)</sup>		氯化苯乙胺 <sup>1)</sup> 氢氧化钠
Sulamyd 眼用溶液	磺胺醋酰			硫代硫酸盐 <sup>2)</sup>	甲基纤维素 尼泊金甲酯 尼泊金丙酯

续表

E

产 品	组 分				
	抗菌剂	抗炎剂	酸	消毒剂	其 他
Terra-Cortril 眼用溶液	土霉素	氢化可的松 (1.5%)			矿物油 三硬脂酸铝
Tobradex 眼用溶液	妥布霉素	地塞米松	硫酸 <sup>2)</sup>		氯化苯乙胺 <sup>1)</sup> 四丁酚醛 EDTA 羟乙基纤维素
Tobradex 眼用溶液	妥布霉素		乙酸 硫酸 <sup>2)</sup>		硫酸钠 四丁酚醛

1) 防腐剂。  
2) 调节 pH。

与耳用抗菌制剂相比，眼科抗菌制剂给医生提供了更广泛的抗菌素，可用于治疗更难治愈的耳部感染。其中庆大霉素、妥布霉素和磺胺类药物是三种最常用的抗菌药物。

庆大霉素和妥布霉素眼用制剂通常用于治疗较难治愈的耳部感染，后者毒性比庆大霉素小，并且它对假单胞菌属的活性更高。这些抗菌剂抗菌谱广，对变形菌、克雷白氏菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌有效<sup>[20]</sup>。如前所述，局部使用庆大霉素会产生耐药性<sup>[9]</sup>。尽管这两个药物均有耳毒性，但临床上并不明显。

磺胺类药物对革兰氏阳性菌和阳性菌都有广泛的抑菌作用，作为眼用制剂，它可用于引起慢性耳部炎症的绿脓杆菌、变形菌属、链球菌属、棒状杆菌、白喉杆菌和流感杆菌感染。

环丙沙星因对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和绿脓杆菌作用而有广泛的杀菌活性。它对于顽固性炎症具有理想的抗菌谱，但对更严重的感染，如潜在的骨髓炎，不能仅局部使用。

眼科制剂仅用于顽固性炎症病例，因为广泛使用会引起耐药性。这种制剂没有被 FDA 批准用于耳道疾病，医生在用这种药物治疗顽固性病例时应慎重。最近 Floxin 和 Cipro 耳用滴剂的出现减少了应用眼科制剂治疗顽固性耳道疾病。

粉剂

粉剂用于耳科已经有很多年了。最初是作为扑粉用于慢性耳炎，对乳突腔特别有用。在抗生素出现之前，消毒剂和酸性粉末被吹入耳突腔中。与其他耳制剂不同，粉剂使用时不会引起疼痛。

用粉末吹入器可以将抗生素吹入外耳道或乳突腔<sup>[25]</sup>，表 5 列出了目前适用于吹入器的抗生素制剂<sup>[26]</sup>，把药物装入适合吹入的胶囊，患者可以轻松地将药粉吹入耳道而不会撒在周围。这些抗生素用于治疗慢性耳炎的活性已经得到确证，其他的普通抗生素或消毒剂也可以粉剂的形式用于耳鼻喉科，硼酸就是最常见的例子（图 2）。

表 5 耳用粉末制剂<sup>1)</sup>

组分	每剂用量/mg
氯霉素	50
氨苯磺胺	50
两性霉素 B	5
氯霉素	50
氨苯磺胺	50
两性霉素 B	5
氢化可的松	1

1) 若患者对氨苯磺胺过敏，这些制剂中可以不加氨苯磺胺。



图 2 用于抗生素粉末的球形吹入器。胶囊中含有抗生素粉，将胶囊置于球形吹入器中

麻醉剂

麻醉剂（表 6）用来消除外耳、中耳和大疱性鼓膜炎感染所致的疼痛，也常用作外科手术前的局部止痛，最常用于鼓膜切开术中。这些药物只推荐给鼓膜完整的患者用。

大多数局部麻醉剂都含有苯佐卡因，因为苯佐卡因很少通过皮肤吸收，它能在局部长时间保留，然而其效果也难以预料。苯佐卡因也会产生局部过敏反应<sup>[15]</sup>。

表 6 耳用麻醉剂

产品	镇痛剂	其他组分
Americaine Otic	苯佐卡因 (20%)	甘油 聚乙二醇 氯化苯乙铵
Auralgan 耳用溶液	苯佐卡因 安替比林 利多卡因	甘油 羧聚乙二醇 氢氧化钠
EMLA	丙胺卡因	
Phenol	苯酚	

EMLA 是一种新的麻醉软膏, 它能麻醉外耳道和鼓膜。在外耳道敷 15~20min 后, 移去, 便可以完成外科手术了。该产品在局部麻醉时还可进行鼓膜切开术。

苯酚是一种常见的鼓膜切开麻醉剂, 它用于要进行切开的鼓膜特定区域。它通过迅速破坏表皮产生作用。由于作用于蛋白质, 鼓膜与苯酚接触的区域变成白色, 表明产生麻醉作用。愈合是通过上皮和结缔组织的增殖来进行的, 但在使用后需要经过一段时间<sup>[16]</sup>。

## 其他制剂

丙二醇对于很多组合抗生素滴剂是一种好的基质, 它作为真菌的脱水剂, 可以增强其他抗菌药物的作用。偶尔患者会因其形成接触性皮炎。

许多耳用滴剂中加入皮质激素来减轻耳部急性感染引起的炎症和瘙痒症, 皮质激素也主要用于治疗外耳道的皮肤病, 主要是牛皮癣和刺激性皮炎, 这些药物能减少结垢、发痒和发炎。

硝酸银溶液或粉末制成棉签使用, 有时作为烧灼剂用于外耳道。可以用于肉芽组织或表面感染部位, 通常耐受性很好。但是如果过量使用或骨头外露, 这个部位就不会愈合, 需要外科手术纠正。

## 耳毒性

无论何时讨论新耳用制剂的开发, 都必须讨论耳毒性这个问题, 从临床和医疗合法性的角度看, 这是一个重要的话题。

当鼓膜完整时, 耳毒性不是很重要, 因为制剂只有全身吸收才会产生耳毒性。对于慢性中耳炎化脓导致的鼓膜穿孔, 很容易产生耳毒性, 因为耳用药物可能通过中耳到达内耳。药物在中耳可能扩散经过椭圆形或圆形孔, 导致在内耳吸收, 这些孔存在于把中耳和内耳隔开的薄膜上。对于慢性化脓性中耳炎, 耳毒性的临床相关性问题还存在争论。

关于各种耳用制剂毒性的综述已有发表<sup>[28]</sup>。表 7 列出了在动物模型上证明具有耳毒性的药物, 所有的抗菌剂均有耳毒性。抗真菌药物制霉菌素、两性霉素 B、克霉唑和杀癣灵已经在动物模型上试验过, 发现没有耳毒性。常用的耳用抗生素 (多黏菌素 B 和新霉素) 证明有耳毒性, 氨基

素和黏菌素也具有耳毒性, 新的喹诺酮耳用制剂 (Floxin 和 Cipro) 没有发现耳毒性, 眼用制剂中的乙酰磺胺也没有显示耳毒性。尽管在耳毒性方面认为妥布霉素与庆大霉素相似, 但没用关于外用妥布霉素的耳毒性评价的研究发表。虽然氯化可的松在动物模型中证明具有耳毒性, 其他的皮质类固醇, 如去炎松和地塞米松还没有显示耳毒性。丙缩羟强龙没有试验过。

表 7 耳毒性耳用制剂

溶剂	抗真菌剂	消毒剂	抗菌剂	抗炎剂
丙二醇	甲酚盐	乙酸 乙醇 氯化苯乙胺 氯磺啶 醋酸氯己定	氟霉素 黏霉素 庆大霉素 新霉素 多黏菌素	氯化可的松 聚维酮碘

虽然已经进行了很多的动物研究来评价这些不同药物的耳毒性, 但是因为动物模型和人颞骨的不同, 必须小心评价这些结果。在研究中使用的小型哺乳动物, 通常为大鼠和豚鼠与人耳相比有一个很易暴露的很薄的圆形孔。人耳的圆形孔更深, 更接近骨骼, 比大鼠厚六倍。一些颞骨实际上为很薄的骨架或很厚的纤维塞住了圆形的孔<sup>[29]</sup>。必须进行进一步的研究来评价有关耳用制剂耳毒性的这些差别的重要性。

1992 年耳鼻喉科的调查表明, 80% 的人相信中耳炎导致的神经听力丧失风险高于使用耳毒性的耳用药物导致的神经听力丧失<sup>[30]</sup>, 正如 McCabe 在编者按中所述:

在 30 年的实践中, 我还没有见过一例抗生素滴耳液导致的耳听力损伤, 不管使用多久。所有的经验从那时起还没有改变过。

这个评论不但对患者的治疗很重要, 而且对法医学也很重要。

## 小结

本章介绍了各种耳用制剂, 包括适应证、副作用和限制。理想的耳用制剂还没有开发出来, 耳用清除产品也是如此。抗菌药物应用广泛, 但是在鼓膜穿孔的情况下要受到限制。现有的抗真菌药物似乎可以用作治疗耳的制剂, 但没有一个是批准作为耳用制剂的。介绍了抗菌滴剂的局限性, 包括潜在的微生物耐药性及耳毒性。最近 Floxin 和 Cipro HC 产品的上市, 使人们可以使用更好的治疗外耳疾病和慢性中耳炎的抗菌滴剂, 这些滴剂重新激发了人们开发耳用制剂的兴趣。粉剂不易广泛使用, 必须每次在临用前由药师特别配制。

目前的一些耳鼻喉科医生用没有经过 FDA 批准的耳用药物的实践表明, 仍需要新的耳用制剂, 希望本章能为促进这些新产品的开发打下基础。

## 参考文献

1. Cassisi, N.; Cohn, A.; Davidson, T.; Witten, B. R. Diffuse Otitis Externa, Clinical and Microbiologic Findings in the

- Course of a Multicenter Study on a New Otic Solution. *Ann. Otolaryngol. Rhinol. Laryngol.* 1977, 86 (Suppl 39).
2. Robinson, A. C.; Hawke, M.; MacKay, A.; Ekem, J. K.; Stratis, M. The Mechanisms of Cerumenolysis. *J. Otolaryngol.* 1989, 18 (6), 268—273.
3. Okuda, I.; Bingham, B.; Stoney, P.; Hawke, M. The Organic Composition of Earwax. *J. Otolaryngol.* 1991, 20 (3), 212—215.
4. Senturia, B. H.; Marcus, M. D.; Lucente, F. E. Disease of the External Ear; Grune & Stratton; Orlando, 1980; 31—36.
5. Lucente, F. E.; Smith, P. G.; Thomas, J. R. Disease of the External Ear. *Otologic Medicine and Surgery*; Alberti, P. W., Rube, R. J., Eds.; Churchill Livingstone; New York, 1988; 1073—1092.
6. Meyerhoff, W. L. Pathology of Chronic Suppurative Otitis Media. *Ann. Otolaryngol. Rhinol. Laryngol.* 1998, (Suppl. 131), 21.
7. Brook, I.; Yocum, P. Quantitative Bacterial Cultures and  $\beta$ -Lactamase Activity in Chronic Suppurative Otitis Media. *Ann. Otolaryngol. Rhinol. Laryngol.* 1989, 98, 293—297.
8. Kenna, M. A.; Rosane, B. A.; Bluestone, C. D. Medical Management of Chronic Suppurative Otitis Media Without Cholesteatoma in Children—Update 1992. *Am. J. Otol.* 1993, 14 (5), 469—473.
9. Papstavros, T.; Giamarellou, H.; Varlejides, S. Role of Aerobic and Anaerobic Microorganisms in Chronic Otitis Media. *Laryngoscope* 1986, 96, 438—442.
10. Robinson, A. C.; Hawke, M. The Efficacy of Cerumenolytics; Everything Old is New Again. *J. Otolaryngol.* 1989, 18 (6), 263—267.
11. Bellini, M. F.; Terry, R. M.; Lewis, F. A. An Evaluation of Common Cerumenolytic Agents; An In-Vitro Study. *Clin. Otolaryngol.* 1989, 14, 23—25.
12. Physicians Desk Reference; Medical Economics Company; Oradell, NJ, 1993.
13. Chen, D. A.; Caparosa, R. J. A Nonprescription Cerumenolytic. *Am. J. Otolaryngol.* 1991, 12 (6), 475—476.
14. Jones, E. H. External Otitis. *Diagnosis and Treatment*; Charles C. Thomas, Publisher; Springfield, IL, 1965.
15. Drug Evaluations Annual 1992; American Medical Association; Washington, DC, 1992; 1479—1515.
16. Harvey, S. C. Antiseptic and Disinfectants; Fungicides; Ectoparasiticides. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 5th Ed.; Goodman, L. S., Gilman, A., Eds.; Macmillan Publishing Co.; New York, 1975; 987—1017.
17. Stern, J. C.; Shah, M. K.; Lucente, F. E. In Vitro Effectiveness of 13 Agents in Otomycosis and Review of the Literature. *Laryngoscope* 1998, 98, 1173—1177.
18. Lopez, L.; Evens, R. P. Drug Therapy of Aspergillus Otitis Externa. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1980, 88, 649—651.
19. Personal communication; The Recsci Laboratories; Goleta, CA, 1991.
20. Sande, M. A.; Mandell, G. L. Antimicrobial Agents; The Aminoglycosides. *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Ed.; Gilman, A. G., Rail, T. W., Nies, A. S., Taylor, P., Eds.; Pergamon Press; New York, 1991; 1098—1116.
21. Sande, M. A.; Mandell, G. L. Antimicrobial Agents; Tetracycline, Chloramphenicol, Erythromycin, and Miscellaneous Antibacterial Agents. *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Ed.; Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. S., Taylor, P., Eds.; Pergamon Press; New York, 1991; 1117—1145.
22. Fairbanks DNF Otic Topical Agents. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1980, 88, 327—331.
23. Hoffman, R. A.; Goldofsky, E. Topical Ophthalmologics in Otolaryngology. *Ear Nose Throat J.* 1991, 70 (4), 201—205.
24. Mandell, G. L.; Sande, M. A. Antimicrobial Agents; Sulfonamides, Trimethoprim, Sulfamethoxazole, Quinolones, and Agents for Urinary Tract Infections. *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Ed.; Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. S., Taylor, P., Eds.; Pergamon Press; New York, 1991; 1047—1064.
25. House, J. W.; Sheehy, J. L. Powder Insufflator for the Ear. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1983, 91 (4), 461—462.
26. Personal communication, Medical Square Pharmacy; Los Angeles, CA, 1992.
27. Hickey, S. A.; Buckley, J. F.; O'Connon, A. F. F. Ventilation Tube Insertion Under Local Anesthesia. *Am. J. Otolaryngol.* 1991, 12 (2), 142—143.
28. Rohn, G. N.; Meyerhoff, W. L.; Wright, C. G. Ototoxicity of Topical Agents. *Otolaryngol. Clin. North. Am.* 1993, 26 (4), 747—758.
29. Alzamil, K. S.; Linthicum, F. H., Jr. Extranious Round Window Membranes and Plugs; Possible Effect on Intra-tympanic Therapy. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 2000, 109 (1), 30—32.
30. Lundy L. B.; Graham M. D. Ototoxicity and Otological Medications; A Survey of Otolaryngologists Presented at the Ninth Shambaugh-Shea Weekend of Otolaryngology Chicago, IL, March 6—8, 1992.
31. McCabe, B. F. Editorial Comment. *Ann. Otolaryngol. Rhinol. Laryngol.* 1990, 99, 41.

(张玉波 译)

## F

## 翻转混合器中的混合与分层

Troy Shinbrot

Fernando J. Muzzio

Rutgers University, Piscataway, New Jersey, U. S. A.

## 引言

在许多行业中,固体的混合是基本操作,包括制药、制陶、冶金、化工、食品、化妆品、煤炭和塑料制品业。如给出一个颗粒处理量的概念的话,每年仅全美国就有万亿千克的粉末和颗粒产品,其中大多数需均匀混合以满足性能和质量的要求。本章中,我们以实例介绍了当前的混合与分层机理,这些机理对粉末混合的操作极为重要。我们主要关注于工业翻转混合器的设计,同时包括了大量固体混合操作,并描述了最有潜力的预测模型系统。我们把现有的更加专业的混合设备文献来源(Harnby, 1997)引导给读者,人们对有关颗粒物料混合与分层的大量独特的机理进行了分类,如对流、扩散、剪切、渗透等机理。在大多数应用中,几种机理同时起作用并互相影响,这些方式目前尚不很明确。因此,将粉末装入普通混合器的方式能改变粉末混匀所需的时间,差异达两个数量级。若某种混合器的设计能满足实验室性能要求,工艺放大时在工业级的混合器中能否达到同样的效果则不能保证。尽管全面的和预言性的理解实际混合问题是一个长期的目标,但近来,已经能定义一些混合模型,这些模型能生成与实际的颗粒设备(如三维混合器)观察相当一致的结果,一些方法也十分精确,出现了能对新产品和设备进行分析的系统技术,硬件设备有的已经上市,有的供研究用。

## 基本原理

对颗粒流动和混合的研究按年代可以粗略地分类:约1990年以前,工业上可应用的结果绝大多数是经验性的(如在特殊混合装置中的特定混合实验),基本的研究主要是大量的分析(如仅适用于单相颗粒行为的颗粒状态连续接近法)。尽管在开发专门的工程方案和颗粒系统的基本物理性质方面取得重要进展,但不管哪种方法都没有获得普遍适用的知识。从那时起,计算机科学和方法学的发展使得定量评价颗粒的流动、转运、混合过程达到了前所未有的详细和精确。本章中,我们回顾了翻转流动和混合现象研究中取得的进展,这些进展导致现有最好的预测模型的开发。

## 1. “颗粒状态”的定义

在开发颗粒流动状态的预测模型方面一个主要的限制,也是未来发展的主要领域,是多重的与来源相关的颗粒状态的共存。在一个装置内,不管是翻转混合器、高剪切增强器、磨粉机,还是流化床等,颗粒材料能够,而且一般也会呈现出多种流变学上不同的形态。不同形态的变化,常常与因材料的微小变化或环境的差异引起的复杂结果有关。这是制药工业的特殊难题,产品研发可能在干燥的北方高纬度的地区,而生产则在潮湿的近赤道的气候下。两种环境下赋形剂的吸湿性、作用都有很大不同。混合方式在一种环境下适用而在另一种环境下可能失败。此外,即使在同一控制较好的实验室装置内,也明显存在多种状态。翻转混合器即是如此。

图1显示了试图混合不同材料的表现结果,颗粒的区别仅仅在颜色和粒径上。在这个透明的4L<sup>①</sup>V形混合器中,我们把等体积的小粒径浅灰色颗粒与大粒径黑色颗粒以6r/min的速度混合200r。目视的分层状态仅是几种不同的分层结构之一,可在所有的几何形状和大小的普通混合器中自发重复形成。并且不管操作者如何努力改变工艺参数,结果都一样。这类问题的解决首先需要系统地理解造成分层状态的原因,以便能直接对症下药。这就要求对在翻转混合过程中所见到的不同颗粒的行为做一个分析。



图1 透明V形混合器中较大的深色颗粒与较小的浅色颗粒左右分离,这种状态在许多翻转混合器设计中高装量及高速旋转时自发形成

① 读者应注意此处容量通常指混合器内部容积的60%。



颗粒行为分析的第一步,是表征流动中不可避免地出现的不同颗粒状态。颗粒不同于普通流体,流动时必须“扩张”,即颗粒在静态时相互连锁,不分离时无法移动。扩张的位置和时间十分复杂,但扩张刚刚开始时,颗粒总体看上去仍保持像固体一样的静态,而不同于扩张区域。接着,变成分别玻璃态(无序态)、类似流体,或者当剪切速度提高时剪切界面类似于气体。修饰语“类似”很重要,因为它沿着不规则的压缩链传输压力时,类似固体的区域并不真正具有弹性,而是经历缓慢位移和沉降,时间从数秒到数小时。如时间长达数天至数月,能固化成刚性的“饼”。同样,类似流体的状态是指在空间和时上断续地传输着剪切力,并不符合 Navier-Stokes 方程。类似气体的状态远非平衡状态,不能用 Maxwell-Boltzmann 统计学描述。不同时间不同区域的颗粒床定性行为的差异,以及有关流动和分散的任何一种公认的模型与颗粒行为之间的差异,都使得对最简单的颗粒系统进行预测也具有挑战性。

尽管在开发颗粒流动的通用模型时存在一些内在的困难,一些重要的有实用意义的混合问题还是通过建立模型、计算机和半经验的方法得到有效分析。在接下来的章节中,将概括介绍目前了解的颗粒混合与分层。

## 2. 基本的二维混合机理

在翻转混合的应用中,混合器旋转时颗粒床的自由上

表面主要发生扩张和流动,并认为下面的大多数颗粒是几乎不动的。对于一些混合器,这种简单描述发生了变化[图2(b)],大多数普通混合几何的预测模型在导出时都忽略了自由表面下的运动。在接下来的章节中,概括了现有的最好的模型并描述了其在普通混合器设计中的应用。

尽管与几何形状更复杂的实际混合器有显著差别(见“竞争性方式的分层与举例”部分),水平的鼓式混合器具有简单的几何形状,因此,为最初的颗粒混合与分离分析提供了有用的环境。水平鼓式混合器是翻转混合器中最简单的形式,用于制药、化工和冶金工业,如球磨、干燥、转炉、包衣锅和混合机。

### 流态

在旋转鼓内流动的各种形态已用一些物理量进行定量描述,如滑移(slipping)、坍塌(avalanching)、翻滚(rolling)、梯流(cascading)、奔流(cataracting)、离心(centrifuging)等。

滑移:滑移是指颗粒在筒内进行固体旋转并沿着筒壁滑动,通常是间歇性的。当简单混合器中仅装载小部分颗粒时经常发生,可通过在旋转腔体内壁加装各种设计的挡板来解决。尽管滑移对混合而言不是很重要,但即使在很有效的混合系统也会发生。一项对翻转混合器每旋转一次颗粒床的翻动次数的评估显示,滑移现象经常发生。

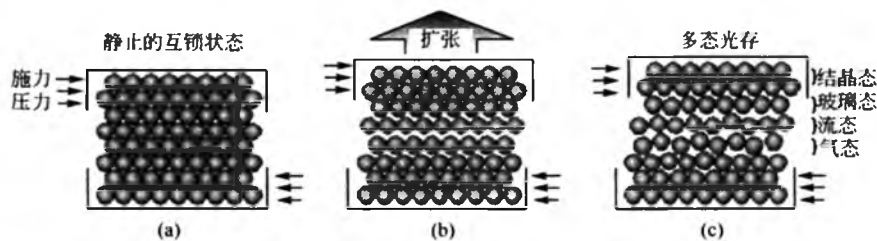


图2 固体流动的先决条件即扩张机理的示意图。(a)在未搅拌状态,颗粒相互锁定,行为很像普通固体。(b)在外加剪切力的作用下颗粒床扩张,进行流动。(c)在流动状态,颗粒床形成明显的结晶、玻璃和类流体和类气体状态。结晶态规则有序;玻璃态为无序的静止状态;类流体状态能流动,但存在持久的接触;类气体状态的特点是迅速和短暂的颗粒间接触

坍塌:在翻转速度较慢时,发生坍塌,也称为雪崩。在这种状态下,一堆颗粒从自由表面向下移动然后静止,直到再有一堆颗粒流动下来,形成断断续续的雪崩翻动。坍塌在大型旋转混合器中不易见到(直径大于数十厘米),但很有指导意义,因为在一个几何形状简单的密闭混合腔内解决了流动与混合问题。这种经验可以谨慎地沿用到更实际的系统中。

要分析这个问题,只需要观测休止角。如果自由表面即将发生坍塌时的休止角是 $\theta_1$ ,刚刚发生坍塌时的休止角是 $\theta_2$ ,坍塌效应是计算在角度为 $\theta_1 - \theta_2$ 时物料的楔入,图3(a)中的示意图描述的是理想的二维盘式混合器所形成的下斜坡。同样情形也适用于所有其他装量水平,人们可以方便地利用这个模型进行具体的测算。首先,通过发生坍塌进行混合有两个明确的机理:一是颗粒在一次坍塌时在

楔形角度内重新排列;二是颗粒在持续的坍塌中总体重排。其次,在50%装量水平下[图3(b)],两个坍塌楔形角度没有相交,因此在分开的区域不存在整体的混合,因而混合很慢。最后,由于流动发生于坍塌的表面,在装量很多时必定出现一个无混合核心[图3(c)]。尽管这个模型过于简单,并忽略了材料的因素、边缘效应和其他重要的物理现象,但这些结论还是被沿用到更现实的系统中。

翻滚:在较高的翻转速度下,不连续的坍塌被混合表面的连续流动所代替。在瀑布层下面的颗粒在混合器中旋转形成固体,直至到达表面。这种方法能解决颗粒的流动和转运,但也必须做出一些简单假定。一个假定认为:颗粒很小,可看作一个连续体,并且可认为自由表面几乎是平面,如图4(a)所示。流动层与下面支撑床之间的接触面通过实验确定,经过详细的计算大致为抛物面<sup>[1]</sup>,根据

接触面的质量守恒的要求，可以建立连续流动的方程<sup>[2]</sup>。如果用理想的盘式混合器来模拟混合过程，开始用垂直中间板隔开，在左右分别放置机械相同但颜色不同的颗粒，

然后开始混合，可以得到如图 4 (b) 显示的结果（对应于特定颗粒装量和流动层厚度）。图 4 (c) 显示相应的实验结果。

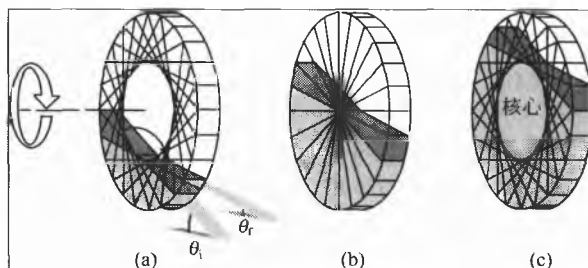


图 3 (a) 在理想的盘式混合器中，当自由表面从初始角  $\theta_i$  变为终止角  $\theta_f$  时，坍塌将颗粒从上斜坡迁移至下斜坡，这意味着总体混合在四边形的区域进行，在此区域一个楔形内的颗粒与第二个交叉；(b) 混合器在低装载时比高装载时混合更有效，在 50% 装载时总体混合几乎停止；(c) 在装载高于 50% 时，会在坍塌表面以下形成一个核心，因此不会发生转运或混合



图 4 (a) 在翻滚状态，混合物料分成流动的表面层和固态的支持层；(b) 通过建立简单的情形，如质量守恒，可以确立流动的分析模型，在开始时分隔开的着色的相同颗粒间形成混合模式；(c) 与在小型鼓式混合器中使用自由流动的颗粒进行实验混合模式相比，结果基本一致。(c) 图是采用固化技术从混合器内部得到的，该技术在本章的“固化”一节介绍

梯流、奔流和离心：对大型的翻转混合器，或高速旋转混合器，腔体的内表面明显不平，如图 5 所示的直径为 1m 的盘式混合器<sup>[3]</sup>。这种流动称为梯流，本质上不同于翻滚流动方法。此时的流动层较薄，在速度和厚度上较均匀一致，可以模拟为平均深度的活塞状流动 (plug-like

flow)。随着混合器转速的提高，流动表面的凹陷程度增大，直至出现颗粒从上部直接落下。在转速更高的情况下，颗粒受离心力作用甩向混合腔壁，这种流态分别称为奔流和离心，尚未很好地分析过。

## 三维混合器的混合机理

为了对颗粒行为进行分类，尽管鼓形混合器代表了一个常规的范例，但大多数混合过程是在几何形状更复杂的翻转混合器中进行的。制药工业中使用最普通的三种形状是双锥混合器、V 形混合器、箱式混合器，示意图见图 6。每一种混合器均有多种改进型，例如，打破双锥形状中的对称结构使之倾斜，产生交叉流动；延长 V 形混合器的任何一侧；在箱式混合器中插入挡板等。

为了建立在复杂几何形状下的流动和混合模型，采用了颗粒动态模拟 (particle-dynamic simulation) 技术，在这些模拟中，每个颗粒都被当作一个独立实体来处理，其重要的物理性质（如粒径、静态和动态的摩擦系数、复原系数等）与感兴趣的问题有关，每个颗粒均应用牛顿运动定

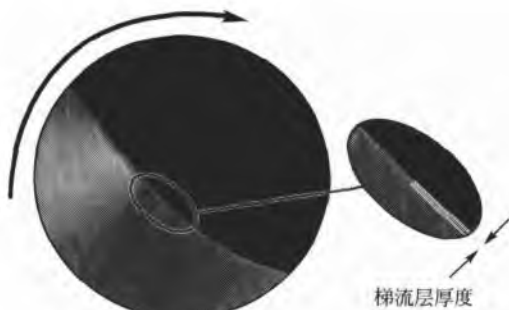


图 5 梯流发生于大混合器或混合细的流动性好的颗粒的过程中。本图显示 1m 直径的透明盘式混合器部分装载着色的约 500 $\mu$ m 的不规则颗粒。自由表面明显不平，梯流层较薄，与沿着流动表面距离一致

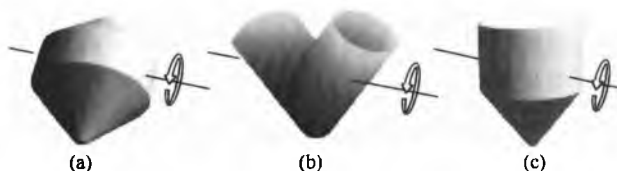


图6 三种常用混合器。(a) 双锥混合器；(b) V形混合器；(c) 箱式混合器

律。颗粒动态模拟在概念上类似于分子动力模拟，但是包括了宏观颗粒在流动性上的重要特征（如静态和动态摩擦模型），而不是微观性质（如键强度和化学势）。微粒动态模拟根据处理颗粒物理参数（如滚动摩擦和颗粒形状）或数据处理（如检索算法和保证计算稳定的方式等）可分为许多不同的类型。不同模拟计算结果可能不同，有时差别很大，因而对数字结果实验验证的重要性不能过分强调。

两种最常见的微粒动态模拟为“硬颗粒”方法和“软颗粒”方法。硬颗粒方法计算微粒对瞬间的、微粒间二元碰撞（binary collision）的响应轨迹，并允许颗粒在碰撞时按弹道轨迹运行。这种模拟只允许发生瞬间的接触，因此经常用于快速流动的场合，如在滑槽、流化床和高能激发态系统中的颗粒。另外，软颗粒方法允许颗粒发生弹性变形，用弹性和摩擦学理论的标准模型计算颗粒碰撞时的响应。这种方法允许颗粒持续接触，因此首选为翻转混合器的计算模型。本章所描述的模拟方法（即软颗粒方法）已经确认与对照实验完全一致<sup>[4,5]</sup>。

## 1. 对流

所有翻转混合器中的混合由快速的对流阶段和随后的缓慢扩散阶段组成。前者受许多颗粒的平均速度所驱动，后者由导致颗粒重排的速度波动造成。颗粒的对流（如流体）迄今为止是最快速和最有效的混合机理，但同时也具有与流体混合一样的局限性：对流经常会阻碍混合（如孤岛效应），与周围的物料不发生作用。这在两种反常状态下容易观察到：一是混合物料装量过多时，翻转时颗粒形成一个椭圆形的、整齐的孤岛，作为一个整体在颗粒床中央旋转（在前面流态章节中已讨论过）；二是对称混合器（最标准的设计）显现出的分界线把颗粒流分割成无相互作用的几个部分。此外，目前对实际的三维几何形状的混合器中颗粒流动形式和混合障碍的细节了解不多。尽管如此，有证据显示类似在流体中见到的歧流（bifurcation）等现象在颗粒翻转混合器里也有。

颗粒混合器中的对流还涉及受重力（翻转混合器）或叶轮（强制式的、带状混合器或其他混合器）驱动颗粒运动的影响。对流在各种功能几何形状的混合器均可观察到，并可用微粒动态模拟形象化显示。图7从前面和侧面连续显示了V形混合器中20 000个相同的着色小球（两种颜色），每旋转四分之一圈时出现的梯流状态。这些图片说明了发生在混合器中的颗粒从顶端到底部翻转的流动性性质。

不同颜色颗粒间的接触面积随时间增大，由对流形成的混合程度也随时间线性增加，图4(b)和(c)也是如此。尽管各种几何形状的翻转混合器都显示类似的性质，但是不同几何形状混合器之间的定量混合可能有相当大的差别（参见“混合速率”一节）。

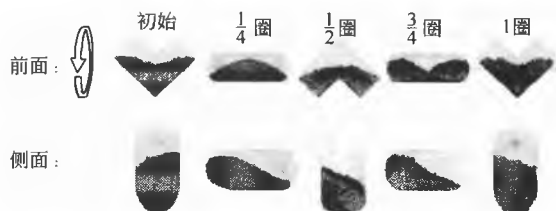


图7 V形混合器中相同的着色小球的颗粒动态模拟中的快速的对流。上图，从前面观察，与一些设计不同，这种混合器中的对流驱动颗粒轴向运动，向外转时向混合器臂方向，向内时向中间方向运动。这种轴向流严重影响混合，如“混合速率”一节所述。下图，侧面观察表明颗粒转运主要取决于螺旋流，在鼓式和其他混合器中也是如此（参见图4）

## 2. 分散

分散或称扩散，与对流相对，颗粒在混合器中旋转数十或数百转时能有效地分散开。扩散还指由于相邻颗粒碰撞引起位置的随机分布，通过成百上千次的转动才能达到。因此颗粒穿过V形混合器（或在许多其他几何结构混合器的类似对称平面）两臂接触面仅是因为发生偶然的碰撞，而不是由于正常的流动。采用了许多措施以减少这种局限性，包括挡板的使用、不对称交叉流动的装置（指早期情况）、不规则转动方式或轴向摇摆等。但尽管有改进，扩散还是混合的限速机制，改善扩散混合还有很大潜力。

尽管对流通常比扩散快几个数量级，实际上，各个混合机理的相对贡献受到物料在混合器中最初分布的影响很大。因此，水平层的物料（图7）混合相当快，而当两种物料分别装入两侧时（有意装入，如图8所示，或操作者的无意装入），混合将缓慢得多。

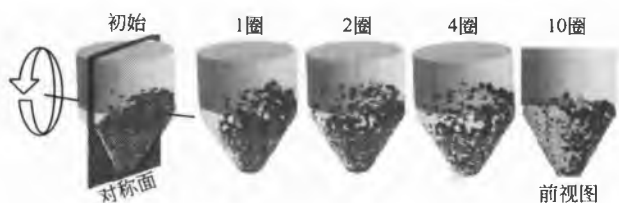


图8 分散混合通过混合器的对称平面缓慢，如箱式混合器。转10次后，前视图显示在此颗粒动态模拟中相同的着色小球仍具有最初明显的左右分布

为形象地显示这种效应，图8显示了8000个除颜色外其他都相同的颗粒，分别装入箱式混合器的两侧后的扩散混合，在连续旋转中的每一转，仅少量颗粒穿过两种颗粒中间对称接触面，因此，直至10圈以后，原来的颗粒状态

## F

仍维持着。对药用辅料和活性成分的实际混合实验中获得的分析确证,这种不完善的物料装载状态在混合器翻转了数百转后仍保持着任何原来的不均匀。

### 3. 剪切

颗粒和粉末混合的最后一类为剪切,它包括由混合增强器或相关装置形成的在剪切层或高剪切区域起作用的许多不同机理(图2)。颗粒在剪切运动过程中重排,因此可以穿过剪切层扩散。另外,通过类似于混悬液中“剪切-诱导迁移”的机理,大的或不规则的颗粒趋向于从高剪切区域被推出。最终,邻近颗粒的排列通过外部张力的影响变得扭曲。这是剪切混合最典型的类型,本身还包含了几种小类型。

第一,在简单的旋转混合器中,简单的剪切作用使颗粒床变形,表明张力接近连续分布,导致规则的和可预见的混合行为,如图4(c)所示。该图是用平均粒径约1mm的颗粒的自由流动而得到的。

第二,由弱黏结性材料组成的颗粒床(如粒径在50~300 $\mu\text{m}$ 的非黏性颗粒)显示出黏滑运动(stick-slip motion),所以流动是间歇性的而不是连续性的。这有着很重要的现实意义,例如,在制药工业的混合中,所使用的材料种类和粒径范围都非常宽广,随着粒径的变小或颗粒间黏结的增强,黏滑流动使原来平滑、规则混合界面格局(如图9所示,500 $\mu\text{m}$ 或700 $\mu\text{m}$ 例子)变成复杂、不规则的格局(如图9所示,300 $\mu\text{m}$ 或100 $\mu\text{m}$ 例子)。在简单的几何结构中,这种对剪切的响应可以建立精确的模型:如果我们假设颗粒床的流动表面周期性地黏结和滑动,那么通过计算流动层和颗粒床之间的剪切带的周期性变形,图4(a)所显示的机理就可以被修饰<sup>[2]</sup>。这就产生了原本分开但相同的颗粒的混合模式,这种模式基本上同实验一致,如图9底部所示。这对混合而言很重要,因为在平滑而规则的流动中,相邻粒子较长时间保持相邻位置。而在间歇性的黏滑流动中,颗粒能在混合器内穿越后迅速重新定位。不难说明周期性的黏结和滑移使导致颗粒分隔开的区域间接界面按指数规律迅速增加。

第三,对于粒径小于100 $\mu\text{m}$ 的粒子,颗粒间的内聚

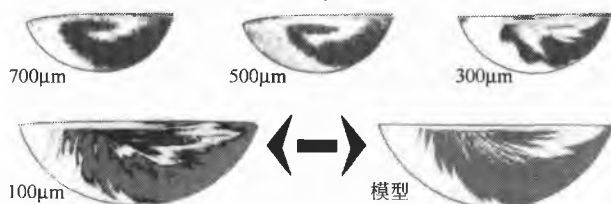


图9 鼓式混合器中装载相同(但颜色不同)的颗粒旋转1圈后的混合模式,四个实验和理想的黏滑流动模型模拟中均采用更细的颗粒。对于700 $\mu\text{m}$ 和500 $\mu\text{m}$ 的颗粒,混合界面保持平滑和规则,低于300 $\mu\text{m}$ 时,由于出现间歇的滑动界面变得多种多样。每个实验的抓拍图片采用“固化”一节介绍的固化技术显示了混合器内部的情况,所有的实验开始时浅色颗粒在左侧,深色颗粒在右侧

力(源于紧密接触颗粒的 van der Waals 力相互作用,和润滑接触面的吸水层表面张力)变得可与粒重相当,小颗粒相互黏结成相当硬的小团块。除非将这些团块破坏,否则它的表现好像有效粒径远大于初始粒径的大颗粒一样。

对黏附性很强的材料,有必要用高剪切的“强化”装置使这些团块变成碎片,如推进叶片或碾磨,能有效地将大颗粒粉碎成最细的程度。强化通常在早期的预混合阶段针对小部分辅料进行,以避免最终产品的过度混合。强化的结果在“分析”一节讨论。

## 分层

处理不同颗粒的混合几乎不可避免地促使分层,也称为分离,其特征为成分不一致的区域自然出现。在文献中,由于混合时颗粒粒径不同引起的分离引起了最大的关注,包括流化床、进风管道、加料斗、振动床和翻转混合的研究等。由于颗粒相对密度、形状和静电性质等引起的分离也有记录。实际上在颗粒的混合中发现,分离的特点是在短时间内提高(当对流产生大规模的混合时),然后显著降低(当较慢的分离流动占主体时)。分层不应该与过度混合现象相混淆,过度混合时常在混合应用中遇到。过度混合与材料性质的物理磨损有关,例如,过度混合时腊质润滑剂过分变形,进而覆盖在药用颗粒表面并使生物利用度降低,或者包衣颗粒经过磨损或者破裂而被破坏。

今天,即使在简单的旋转混合腔内的分离机理仍然是不清楚的,对更复杂的工业上常用混合器的几何形状方面所做的工作也极其有限。在翻转混合器中确定了三种分离类型:径向分层(radial demixing)、轴向分层(axial demixing)和竞争性方式分层(competitive patterned demixing)。我们依次逐个叙述。

### 1. 径向分层

分离典型地发生在两个阶段。首先,大颗粒很快放射状分开,形成被大颗粒包围的细颗粒中心核,图10是一个简单旋转混合腔。不同于以前所见[图3(c)]的过度装量现象,这里的核心出现在装量不到50%时,特点是旋转混合时细颗粒朝着旋转中心迁移。放射状分离在各种几何形状的近似二维混合器和完全的三维混合器中均能见到。在较简单的几何形状的三维混合器中,如鼓式、双锥和箱式,当混合颗粒之间的差异很大时,几乎总是出现核心。几何结构更复杂的如V形或斜锥的混合器,能有效地消除核心。仅当装量很大或某些方向(垂直式)的混合器中出现。然而,即使是最简单的鼓式混合器中,核心的位置和动态仍有些令人费解。如图10所示,核心实际上位于梯流颗粒的几何中心的上游。

核心的形成似乎由两个因素联合作用。首先,较小的

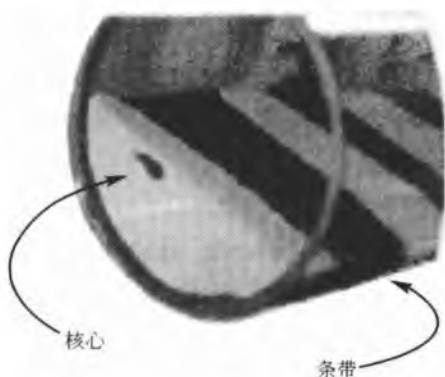


图 10 在小型透明鼓式混合器中细颗粒（深色）与粗颗粒（浅色）的分离模式。细颗粒核心延伸于整个混合器，将出现于单个鼓形管中的表面的条带连接起来。粗颗粒在该管限定的区域内流动，该限制对于理解更复杂的几何形状的混合器中的分离机理很重要，如“竞争性方式分层”一节所述

颗粒在每一次转动中相继透过流动层占据更下的一层；其次，一旦小颗粒积聚到足够的量，大颗粒趋向于越过（相对平滑的）小颗粒层更加自由地滚动。通过驱除余下的较慢的小颗粒，较高速度的表面流加强了分离状态。这些机理是非常肯定的，核心总是在旋转时自由流动颗粒的直径比为  $1:1.5 \sim 1:7$  形成。当颗粒之间的直径比接近 1 时，核心会明显扩散开。反之，当直径比增加到足够大时，细颗粒可以更自由地穿过大颗粒方阵，或者更细时包裹在大颗粒外面。

## 2. 轴向分层

第二种分离状态存在于鼓式旋转混合器中，核心颗粒沿着鼓轴迁移。数据和实验上的研究把这种迁移归因于冲突原因。例如，核心内导致核心向表面突出的二次流与细颗粒、粗颗粒、粗细颗粒混合物的不同休止角相冲突。不论是什么原因造成的，轴向迁移的最终结果是形成了一系列带状区域，如图 10 所示。最终结果，形成了两种明显的状态，其分隔界面几乎没有混合。

## 3. 竞争性方式分层

在更复杂和更常用的混合器几何结构中，可以观察到几种清楚的分离方式。这些分离方式据认为起因于流过细颗粒径向分离核心的粗颗粒的表面分离与混合器界面的相互作用之间的竞争。尽管普通混合器的几何结构有很大差异，但最终方式还是有很大的共同性。例如，较大的灰色颗粒和较小的深色颗粒在双锥和 V 形混合器内混合，不论是实验结果还是微粒动态模拟都产生类似模式，如图 11 所示。

当混合参数如装量、转速、不同颗粒的比例等变化时，颗粒混合模式尽管有很大改变，但重要的是，几个主要的和可重现的模式在各种混合器的实验和模拟中都可见到。特别是在高装量和高转速下，如图 1 显示的“左右状态”占据主导。图 12 是双锥混合器的顶视图，显示了这种模式

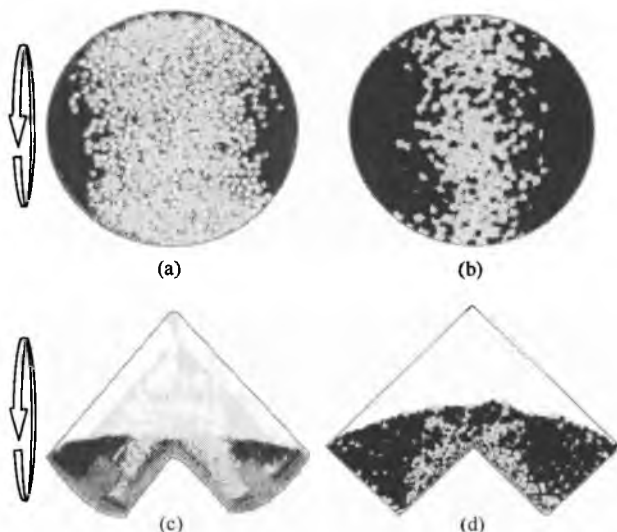


图 11 采用大颗粒（浅色）和小颗粒（深色）进行实验（a）和颗粒动态模拟（b），在双锥混合器中混合的顶视图。类似的模式在其他类型的混合器如 V 形混合器中也可见到，（c）为实验，（d）为模拟

和另两种不同的常见模式。无论何时，不同大小的颗粒在任何几个混合器中混合，这些模式中的每一个都自发地和可重复地出现。图 12 的实验图形下面的模拟采用了一个连续区模型，大颗粒在理想的小颗粒床的表面上对流传递。这里也包括了容器几何学的假设：当大颗粒到达理想混合器的下游边界时被反射般地弹回。模拟结果与实验数据之间的相对应说明，逐步完善的在建模型有望除去分层机理上的面纱，有望最终建立实际颗粒处理系统的精确模型。

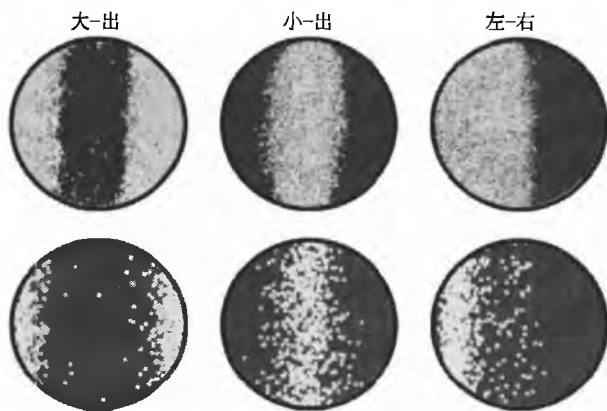


图 12 大颗粒（浅色）与小颗粒（深色）在双锥混合器中混合的顶视图示意三种常见的分离模式。上图为实验，下图简单的连续模拟

## 4. 放大

颗粒研究的最终目的是将工艺从实验台到中试到大规模按比例放大操作。按比例放大的方法在其他方面已得到

## F

很好发展,如流体,但对于颗粒系统仍是较远的目标。有几个可选的放大方法可推荐,例如,与已知颗粒流动速度 $v$ 、给定的斜面高度 $h$ 、重力加速度 $g$ 有关的常态无因次群是弗劳德数(Froude number),定义为动能与势能的比: $Fr=v^2/gh$ 。然而,对实验结果的分析显示,不论混合还是分离都不与 $Fr$ 成比例。其原因有如下几点:对流、扩散和剪切的竞争性混合机理,每种作用于不同的特征时间尺度,因此,它们的交互作用是极其复杂的。加之,颗粒沿梯流表面向下加速,因而发生的行为变化定量地取决于颗粒是否到达梯流渐近速度(asymptotic speed)[例如,比较图4(c)和图5]。这些和其他一些因素的影响使得颗粒按比例放大的第一性原理(first principle)分析存在问题。

然而,在一个具体混合器中可以得到实验上可重复的比例关系。例如,在鼓式混合器中,已经确定如果在低转速下 $R \cdot \Omega^{2/3}$ 保持恒量(此时,颗粒在梯流层达到最终速度),或者在高转速下 $R \cdot \Omega^{1/2}$ 保持恒量(此时,颗粒没有达到最终速度),就会存在动力相似的对流,这里 $R$ 是鼓的半径, $\Omega$ 是旋转速度。同样地,显示在图1、图11和图12的分层模式在所有混合器放大中均有发现,并且获得了这些模式之间转换的动力相似性关系。这些鼓舞人心的发现显示了在特定几何形状的混合器中颗粒混合工艺的按比例缩放也许是可能的,但当工艺参数(如材料性质、装载量、混合器几何形状等)改变时,比例关系预计会有定量的改变。像任何发展迅速的领域一样,当前对颗粒混合了解程度尚不能彻底适用于实际的需要,研究趋势表明在中长期内还是有可能的。

## 混合的度量

对混合进行有意义的评估和解释的先决条件是对混合进行可靠测量的理解 and 应用。尽管这个概念看似简单,但其实施也需要足够的仔细。任何混合的测量都是首先测定规定抽样区域相关的量,通常是浓度。更理想地,为了使样品具有代表性,应该从在时间和空间上都一致的颗粒流中均匀取样,但在混合器中这是不现实的,通常取样是从静态颗粒床中选取一小部分。我们简单讨论取这样一部分样品的技术和局限性,但是首先得回顾一下,如果能得到整个颗粒床全部浓度资料会做什么。这样一个理想化的方案见图13,显示了颗粒的二维床的连续快照图。假设我们能把混合器细分成许多相等的小格子——二维的面积元素、三维的体积元素,在每个小格子中,将关注的颗粒浓度定为 $c_a$ 。这样图13中 $c_a$ 的范围为从黑色区域的0到浅灰色区域的 $c_a=1$ 。

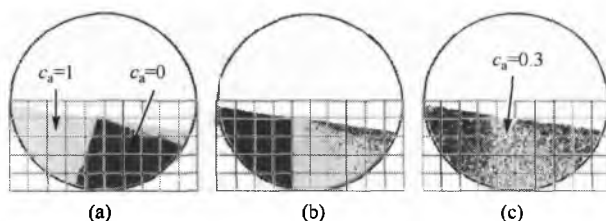


图13 (a) 将混合床分成取样区域,通过测定每个区域所关注的样品的浓度 $c_a$ ,可以进行相关的统计;(b)和(c)随着混合时间的延长,浓度接近一平均值,其标准差随着取样区域的增加而减小

### 1. 数据解释

首先要注意的是,不是所有的小格子都充满颗粒,颗粒床外围的格子会严重影响结果。例如,在最左边的快照中,部分充填的格子里反常地由浓度比例 $c_a$ 很高的颗粒组成,非权重地评价所有格子里的颗粒会给出一个平均浓度,在本例中是60%的浅灰色颗粒。这明显与实际不符,但可以通过两个途径校正:一是减小格子尺寸(由此减少了包含颗粒床边界的格子的分数)或排除边界格子,或更合适的方法是,对每个格子按填充水平进行权重。

第二个问题是在精确度和分辨率之间有必要确立一个平衡。那就是,如果格子的尺寸减小了,可以获得更多的格子,因此有更多的 $c_a$ 值,从而,原则上对混合的测定产生较小的标准误差。另外,减小格子明显有限度,即接近颗粒大小,在这个限度上,任何混合在统计学上表现为不混合(因为每个格子只能取两个 $c_a$ 值中的一个,或者为0或者为1)。在实践中,一个既可提供较低的标准误差,又可得到足够的样本数<sup>①</sup>的折中办法是容易获得的,然而,在确定一个取样方案前,要理解我们所寻求获得的目标是很重要的。

第三个问题见图14,我们描绘了三个混合状态图,每

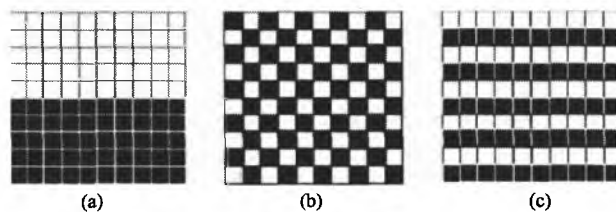


图14 图示合理数据解释的重要性。(b)状态看起来混合很好,但与状态(a)和(c)有着同样数量的黑白格子,最终需要更多的格子数进行有意义的混合测定。状态(b)和(c)的结构非常不同,但采用常规的统计得到类似的测定结果。因此文献中有很多定制的混合测定方法

<sup>①</sup> 若样本量小时进行计算,人们通常假定在指定格子可出现或不出现粒子符合泊松分布,因而在格子中有 $n$ 个粒子时的不确定性也是如此。



个包含相同的浅色和深色区域数量，清楚地显示最左边的状态完全分离，最简单的测量也为其他两种状态提供同样的混合程度评估。此外，最右边的图解显示了普通的剪切流的结果（比较图9中条纹状态）。正是这个理由，有必要确定比较理想的精确地反映测量终点的测量方法，相应的文献中也有大量不同的测量混合的方法。不幸的是许多不同的测量方法对颗粒混合的全面理解几乎没有促进，无法对不同数据源做比较。如果可能的话，在随后的章节里，我们将推荐一套简单可行的混合测量方法。

## 2. 分离强度

最有用的测量混合的方法之一是测量分离强度。这仅比浓度测量方差的归一化法略复杂一些。因此，使用分离强度的本质，是假设混合颗粒的分布至少大致接近高斯分布。这就引出了两个问题：第一，颗粒的混合是否趋向于高斯状态还不清楚；第二，在许多实际应用中，高斯分布也不是理想的结果。的确在制药工艺中，如果混合是高斯分布而不是均匀分布的话，不可避免地存在高斯分布的指数尾，这肯定会造成少数由这种混合颗粒压成的片剂会超出治疗范围。所幸的是，颗粒流动似乎驱使粒子比高斯分布的状态更均匀，尽管这种行为的细节和机理还不是十分清楚。

有了这些限制，分离强度可定义为

$$I = \frac{\sigma^2 - \sigma_r^2}{\sigma_0^2 - \sigma_r^2} \quad (1)$$

式中： $\sigma^2$  为样本数据的方差； $\sigma_r^2$  为随机选取同数量的浓度数据的方差。 $\sigma_0^2$  为初始时典型的完全分离状态下的相同数量数据的方差。文献上出现过几种  $I$  形式，该形式由于归一化而很有用， $I=1$  和  $I=0$  当时分别对应于完全分离和完全随机混合状态。

另外两个制药工艺中很重要的混合测定，一是相对标准偏差（RSD），定义为

$$RSD = \frac{\sigma}{\langle c_a \rangle} \quad (2)$$

式中： $\sigma$  为标准偏差； $c_a$  为全部取样的平均浓度

二是混合速率  $k$ ，其定义根据下列关系式：

$$I = I_0 e^{-kt} \quad (3)$$

式中： $I_0$  为初始强度； $t$  为时间。许多时候，尽管不是全部，如式（3）所示，混合机理推导出按指数幂接近均一性。偏离式（3）的情况在后文中讨论。现在，我们假设分离强度按式（3）递减，就可以从任何一个给定条件的实验中解出混合速率，并可以因此评价和比较不同混合器、不同操作条件下的混合效率，评价和比较材料或其他有关的性质改变时的效果。

## 3. 示例

### 3.1 混合速率

为了检查混合测量操作，首先要考虑摆脱实验不确定性的系统。在三维翻转混合器中的混合机理以及“分离”章节中讨论过的微粒动态模拟，代表了这种理想系统：所有颗粒及其位置都已知，并且无取样错误（在“取样技术”一章中讨论）。

从混合测量的观点看，这些模拟中最简单的是双锥混合器。混合器中初始轴向分离的体积元素的原始差异如图15（a）所示。根据描绘在插图中的初始位置，差异用颜色区别。显然，在混合器第一或第二转后，差异几乎按指数规律递减（即在这半对数图中是线性的）。然而，最慢的混合是在混合器中心轴附近的颗粒 [图15（a）中的浅灰色]。这是可以预计的，因为如前已评述过的，混合过程中的限制速率是分散穿过混合器的对称面的速率，或者说，开始远离对称面的颗粒经历第二次轴向对流，而接近对称面的颗粒则没有经历第二次轴向对流。

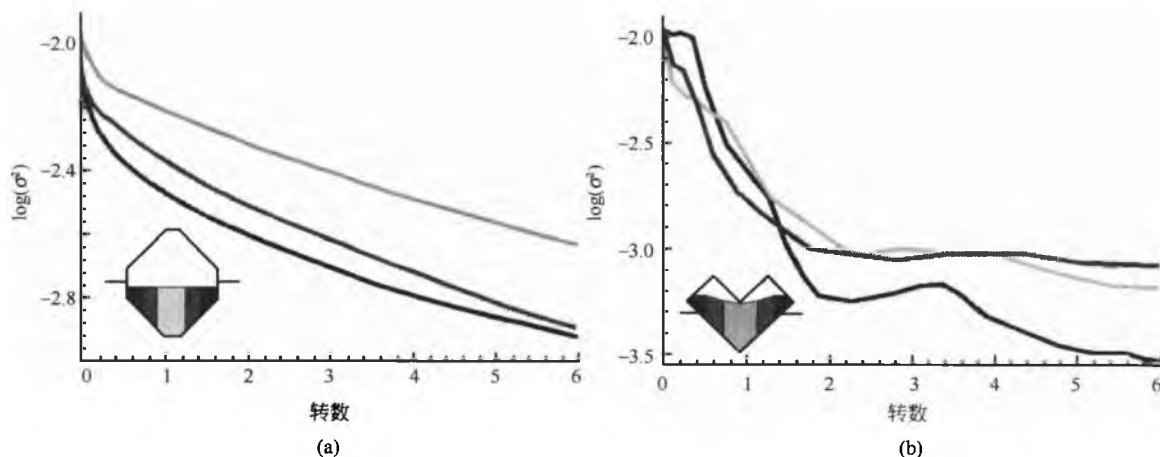


图15 颗粒动态模拟中相同颜色的颗粒的浓度差异。(a) 双锥混合器；(b) V形混合器。注意双锥混合器中的光滑的不对称的指数曲线反映了平滑流动，差异随时间而减小，而V形混合器不稳定的流动（参见图7）产生了混合响应的周期性波动

## F

将此模拟与在 V 形混合器中的对应物做比较是指导意义的,如图 15 (b) 所示,此时混合是极不规则的。这种不规则可以追溯到颗粒往返于混合器转臂的周期性晃动。不易穿过混合器的对称面又一次成为混合的障碍。但图 15 (a) 和 (b) 的刻度比较显示,晃动过程显著地促进混合程度。因此正如人们期待的,双锥混合器中所见到的颗粒平稳流动证实了混合颗粒的差异平稳递减,如图 15 (a) 所示,也通过式 (3) 建立了模型,而 V 形混合器中颗粒周期性晃动很少符合这样一种简单关系。对所有混合器,值得注意的是混合的程度与混合器每个连续的转动一致,不随时间而增加。诸如此类的研究表明混合器转速(在其他条件固定的体系内)几乎是无关紧要的。

## 3.2 分离速率

正如其名称所示,分离强度对分析混合物的分开尤其有用。例如,如图 15 所示,如果不模拟评价相同颗粒的  $I$ ,而评价双锥混合器中模拟混合物分离的  $I$ ,如图 11 (b) 所示,就可以得到显示在图 16 (a) 的示意图。这里,从人工混合状态开始, $I \ll 1$ ,渐近地接近分离状态, $I \approx 0.3$ 。通过把全部被颗粒填充的体积划分成独立的格子,并计算每个格子内小颗粒的数量,获得可靠的数据点。灰色的虚线是一条近似的指数渐近线,其对照物也是。这表明在简单几何结构的混合器中,分离以及混合服从一个简单的指数关系。对更复杂几何结构的混合器,分离也遵循近似的指数渐近线,但曲线非常不平滑。图 16 (b) 是 V 形混合器的情况。

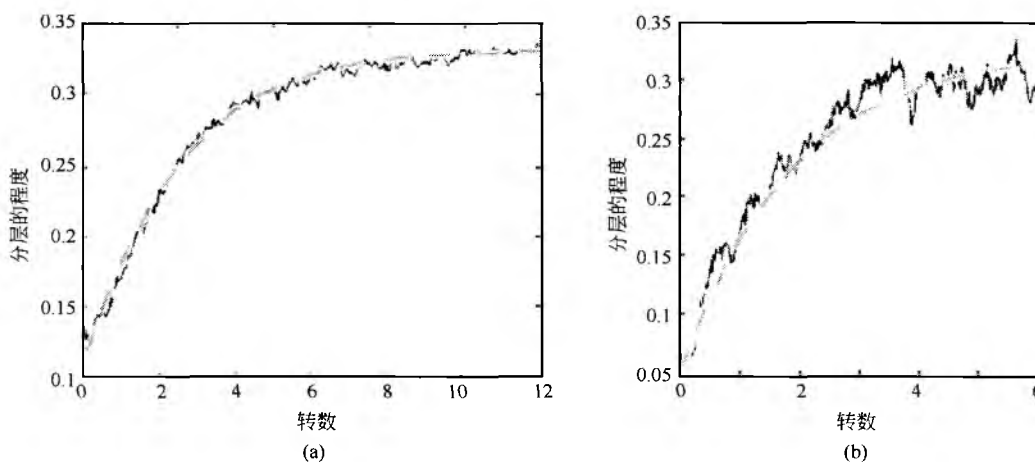


图 16 颗粒动态模拟中不同大小颗粒的分离评价。(a) 双锥混合器; (b) V 形混合器

## 取样技术

### 1. 取样器

在实际的混合过程中,不可能像颗粒动态模拟一样任意获取大量的原始数据,但如前文提到的,必须设法进行静态床取样。在这种情况下,了解抽样限制和系统误差尤为重要。从旋转混合器中获得样品的一个普通的方法是用收集器或采样器。这些采样器可以插入颗粒床内部抽取样品。在这个方法中,获得代表整个颗粒空间分布的样品是很必要的,为此,建议在混合器的上部开口处安装一个夹具,取样器可以在固定位置按规定的深度并垂直于开口平面插入。

两种常用的取样器的特性显示在图 17 和图 18。在图 17 中显示了插入“侧面取样”(side-sampling)管后的样子,该取样管是一根侧面开了一条小槽并可打开和关闭的长管,打开时让颗粒流入管内空间,然后关闭取出样品。在图 17 (a) 的照片中,显示了由  $200\mu\text{m}$  浅灰色和  $60\mu\text{m}$  黑色颗粒组成的结块(见“固化”一节)的颗粒内部。起初

颗粒是分层的,从瞬间快照中很明显地看见,取样管的插入,造成了沿插入轨迹的拖动带。这是由于插入时造成了颗粒的重排而发生异常混合。同样重要的是,侧面取样器依靠颗粒流入其空间而得到颗粒,随后容易流动的或者小颗粒比有黏性或大颗粒更容易穿过取样槽。这些结论来自于定量试验:在图 17 (b) 中,我们图示了分离实验中用侧面取样管获得的样品中小球的比例,其中,  $60\mu\text{m}$  颗粒起初在  $200\mu\text{m}$  颗粒之上排成单一的厚层。很显然,不管原先取样位置的真实浓度,这种采样方法获得的样品几乎都由较小的颗粒组成。

大颗粒或黏性颗粒不易流入侧面取样管的问题可以通过使用底端取样管(end-sampling)而改进,如图 18 所示。这种取样管是先在颗粒中插入预定的深度,打开底部的取样孔,接着插入颗粒中至规定深度,关闭取样孔取出样品。这样颗粒是被强迫进入取样管中而不同于侧面取样管的颗粒被动流入管内,所以这种装置可以相对减少颗粒流动性差异造成的抽样差别。然而,如图 18 (a) 所示,这类装置通常体积庞大,在插入过程中拖带相当多的物料,相对于侧面取样管而言,会导致样品浓度测量[图 18 (b)]的改变,仍然很不准确,高估了混合效果。



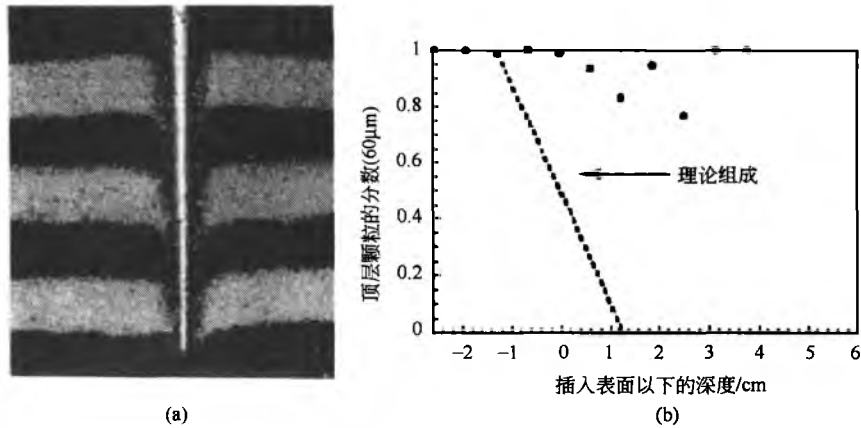


图 17 侧面取样管的系统误差。(a) 初始分层的大颗粒 (浅色) 和小颗粒 (深色) 插入时受到明显干扰;(b) 这种取样器当侧面开口打开时依赖于颗粒的自由流动而取样, 因此细的流动性好的颗粒过多被取样, 且细颗粒被带到新的位置

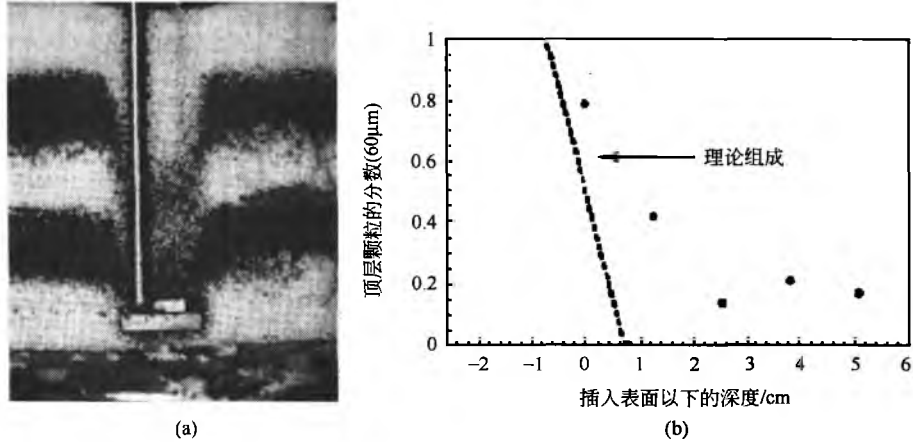


图 18 底端取样管引起的取样误差与侧面取样管不同, 但也存在。这种取样管在底部开口, 颗粒通过再次插入强行进入其中, 颗粒被动填入, 比其他更容易消除偏差。但是, (a) 这种取样管在插入时进入更多的颗粒, (b) 其性能仍受到系统误差的影响

## 2. 核心取样

一个几乎既无流动 [图 17 (b)] 又无不规则拖带 [图 17 (a)] 的替代办法是“核心取样器” (core sampler)。这种取样器可以取到接近全部是插入深度所处核心位置的颗粒。最简单的, 插入颗粒层的探针由薄壁管制成, 还有一个机械挤出装置以允许在取样结束挤出所取样品时按后进先出的方式。对可以自由流动的颗粒而言, 可以从管中流出而不是被挤出, 这种装置可加装端帽 (end-cap), 在插入时打开, 取出时关闭。不同于底端取样管, 这里端帽结构对取样管而言是内部零件, 整个核心从颗粒床中被挤压出。图 19 表明了这个装置的性能。使用了端帽装置 [图 19 (a)]

显示了其关闭状态], 可以顺利地与其他方法比较获得的浓度数据, 见图 19 (b)。重要的是, 在使用核心取样器时, 核心延伸穿过取样管的深度, 因此样品量是很大的。随机不确定性因而很小, 可以预先校正系统误差。

不用端帽装置时, 实验与理论之间的一致性可进一步提高。在图 20 中, 我们显示了三个不同内径的取样管, 对两层普通药用赋形剂粉末的取样结果: 微晶纤维素和乳糖。对所有直径的取样器, 实验数据与理想的预计浓度基本一致。在实践中, 我们注意到取样管壁的抛光 (以防止插入过程中过量拖带和颗粒在管内充填困难) 和使用良好调节的挤出装置均很重要。

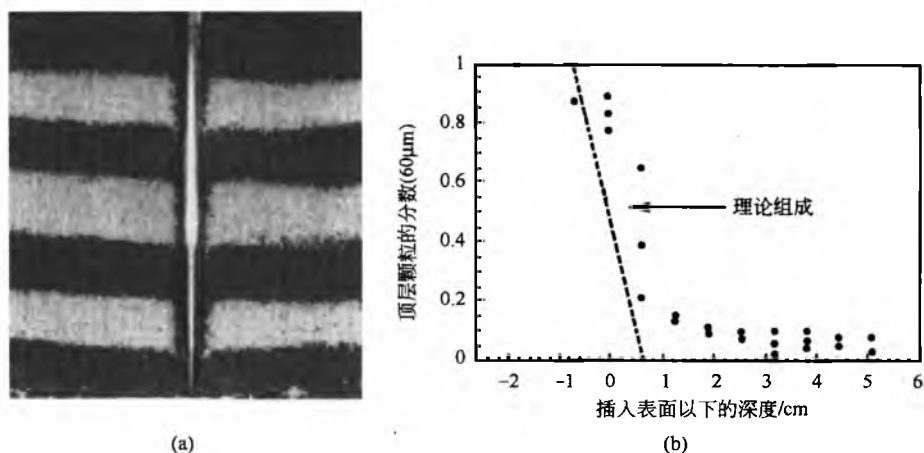


图 19 带端帽装置的核心取样管可以用于自由流动的材料（如颗粒）的取样，若无端帽装置将取样管从床中取出时颗粒会流出。(a) 插入后很少见拖带；(b) 可以减少系统误差

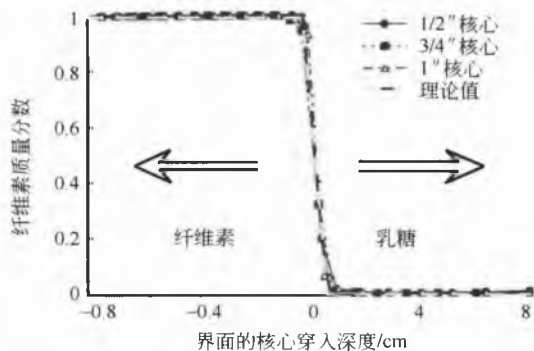


图 20 非自由流动的粉末材料用开口的核心取样管从混合器中取样，此时，几乎观察不到测量误差，本取样实验中采用厚层的微晶纤维素置于乳糖床之上

### 3. 分析

一旦取得样品，就可以使用有效的化学、光学、分光、色谱或者其他分析手段测定所关心物质的浓度。例如，图 20 的数据是利用校正了的密度计量技术而获得的，两种颗粒中的一种预先着色。用其他分析技术也获得相同的结果，如反射近红外光谱法用于评估硬脂酸镁的分布（一种常用的药用润滑剂）。对评价翻转混合设计的效率或工艺改进特别有用的技术为电导率分析。为应用该技术，用简单可溶性盐（氯化钠或氯化钾）模仿活性成分，与标准非电离赋形剂相混合，制成大小适宜的颗粒。用核心取样器（如前所述，从用夹具控制的位置插入）从混合物内部取出样品，挤出固定质量部分，溶解于已知量的溶剂中（通常仅仅是去离子水）。然后用市售的电极测定溶液浓度，通过与单独得到的校准曲线的浓度数据比较，可以迅速而精确地建立模仿活性成分的混合统计，作为感兴趣的参数函数的函数。

作为例子，我们已提到利用增强杆（一种高速叶轮）

或类似装置破碎黏性团块通常是必须的。为研究预混过程中的强化效力，在图 21 中，我们图示了在 V 形混合器中，模仿活性成分对混合时间在有和没有强化两种条件下的 RSD。每个数据点都是从单独的实验中得到的，也就是混合物按预先确定的层次装载，然后按给定时间转动，到时再多重取样（总是在颗粒床的相同位置）和分析。因为样品是从原封未动的核心中取出，可获得整个颗粒床深度的大量数据。一般取均匀地分布在混合器开口周围的九个核心，由于 V 形混合器有两个转臂，所以本组实验中在每个转臂顶部的开口各取了五个核心。

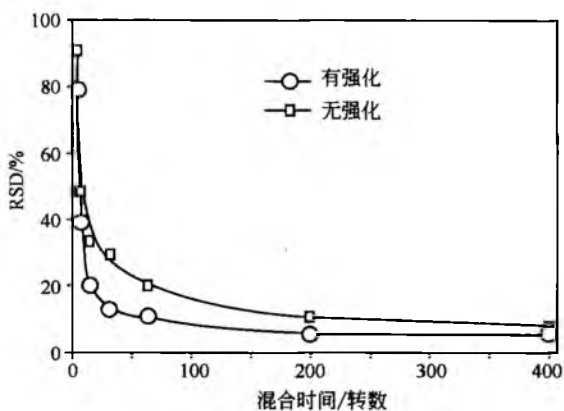


图 21 V 形混合器以 24r/min 翻转，加或不加高剪势切板的混合速率

通过固化（solidifying）整个混合床，可以获得大量细致的数据。例如，先用异丁烯酸酯溶液固化在双锥混合器中的混合物，然后从混合器的对称面处切开，其内部结构显示于图 23。这里，约 90μm 大小的颗粒从原本分离的状态已被混合，以黏流（stick-slip flow，如前所述）为特征的混合结构能被分解至颗粒本身大小。

这种取样方法允许量化多种不同条件下的混合效果。

正如前文提到的，因为核心取样可重复提供大量的床材料，我们可以分析使用其中的一部分，而留下一部分供以后分析用——如进行溶出度或生物利用度试验或留样等。

#### 4. 固化

结合校准分析技术的核心取样是衡量工业化混合器混合效果的最好技术。当然，也有其他技术可供实验室研究。这些技术的黄金标准是这里描述的固化技术。要固化颗粒床，先要用着色的或可区别的颗粒进行混合，然后用聚合物溶液如甲基丙烯酸共聚物、低黏度环氧树脂或热的明胶溶液渗透进混合颗粒中。待聚合物凝固后，整块固化物可以用锯子锯开（对用甲基丙烯酸共聚物、低黏度环氧树脂固化的大块样品而言）或者用刀切开（相对较软的样品），以显示其内部格局。用一定结构（故意分层的）混合物单独实验以验证混合过程是否被渗透所干扰，只要缓慢地倒入渗透液（以避免滞留气泡），从混合器的一端至另一端。这项技术仅适用于实验室规模的设备，因为其凝固时间短，且方便处置和切开整个凝固的混合体。另外，该技术通常还包括剖开混合容器（明显不总是实际的），尽管以明胶固化的混合体可以由混合器外部加热而从中取出。

细的黑色颗粒和粗糙的浅色颗粒在鼓式混合器中用明胶固化后，分隔其混合物，典型的结果见图 22。显示的切片是存在轴向分离和径向分离的明显证据。这些切片也附带揭示了只从物料外部将混合可视化这一设想的明显不足。这些实验在文献中出现过很多次，但如果不研究颗粒床内部来验证其结果，这类研究往往被误导，正如图 22 中切片所示内部与外表的差异。

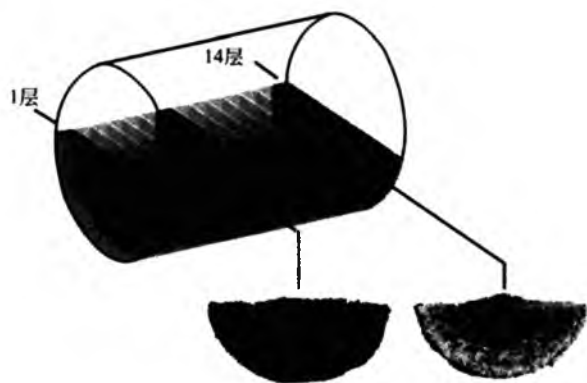


图 22 将粗颗粒（浅色）和细颗粒（深色）在鼓式混合器中混合，固化混合器后得到的内部和外部的切片。分离是明显的，内部和外部切片的差异表明混合程度不依赖于混合器外部形状的重要性



图 23 通过固化整个混合床并进行切片，可以得到高分辨的数据，图中显示大小相同但着色不同的约  $90\mu\text{m}$  的颗粒在双锥混合器中的情况

#### 5. 其他技术

其他更多工艺上相关的技术得到了发展，可以使用肉眼观察颗粒床内部。这些技术包括：

- 漫射波谱学。用于测定相对细薄的 Hele-Shaw 构造中波动统计。
- 正电子发射层析成像术。利用阵列表面光电倍增器追踪流动过程中颗粒床内一个放射性颗粒的轨迹。
- 核磁共振成像。氢化颗粒的磁力矩在结构化的构造中排列（如条纹状），在较短的时间内跟踪这些结构。
- X 射线成像术。在感兴趣的流动中，跟踪不透射线的颗粒。

这些技术应用时一般既昂贵又笨重，然而，也展示了流动中在不透光的颗粒床内部的有价值的资料，而这些是其他方式所得不到的。例如，图 24 显示了 X 射线成像实验的结果，该实验说明了在双锥混合器中混合内部结构的演变过程，使用了掺钨的颗粒作为示踪对象（图 24 中黑色者）。这些实验显示了固化法数据按比例放大的版本，容积放大了 8 倍（从 0.6L 到 4.8L），粒径放大了 18 倍（从  $90\mu\text{m}$  到  $1600\mu\text{m}$ ）。这类数据展示了在流动和混合进程中的复杂性，同时说明了在理解本章主题的历史上的困难及未来发展的机会。

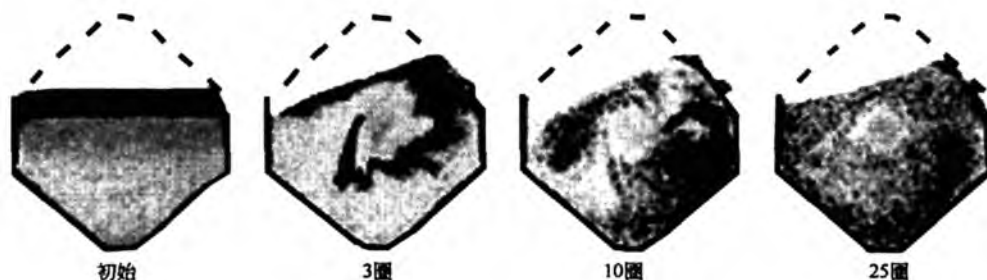


图 24 在双锥混合器中不透射线颗粒的混合结果的 X 射线成像图, 代表了一些新技术可以用于在线和原位的混合机制的分析

### 参考文献

1. Nakagawa, M.; Altobelli, S. A.; Caprihan, A.; Fukushima, E.; Jeong, E. K.; Non-Invasive Measurements of Granular Flows by Magnetic Resonance Imaging. *Expt's in Fluids* 1993, 16, 54-60.
2. Shinbrot, T.; Alexander, A.; Muzzio, F. J.; Spontaneous Chaotic Granular Mixing. *Nature* 1999, 397, 67, 5-8.
3. Lun, C. K. K.; Savage, S. B.; A Simple Kinetic Theory for Granular Flow of Rough, Inelastic, Spherical Particles. *J. Appl. Mech.* 1987, 54, 47-61.
4. Pöschel, T.; Buchholtz, V.; Static Friction Phenomena in Granular Materials; Coulomb Law vs. Particle Geometry. *Phys. Rev. Lett.* 1993, 71, 396, 3-6.
5. Müller, M.; Luding, S.; Herrmann, H. J.; Simulations of Vibrated Granular Media in 2D and 3D. Friction, Arching and Contact Dynamics; Wolf, D. E., Grassberger, P., Eds.; World Scientific: Singapore, 1997.
- Harnby, N.; The Selection of Powder Mixers. *Mixing in the Process Industries*, Butterworth Heinemann; Oxford UK, 1997; 42-61.
- Jaeger, H. M.; Nagel, S. R.; Behringer, R. P.; Granular Solids, Liquids, and Gases. *Rev. Mod. Phys.* 1996, 68, 1259-1273.
- Lacey, P. M. C.; Developments in the Theory of Particle Mixing. *J. Appl. Chem.* 1954, May 4, 257-268.
- Moakher, M.; Shinbrot, T.; Muzzio, F. J.; Experimentally Validated Computations of Flow, Mixing and Segregation of Non-Cohesive Grains in 3D Tumbling Blenders. *Powder Technology* 2000, 109, 58-71.
- Muzzio, F. J.; Robinson, P.; Wightman, C.; Brone, D.; Sampling Practices in Powder Blending. *Int. J. Pharmaceutics* 1997, 155, 153-178.
- Muzzio, F. J.; Roddy, M.; Brone, D.; Alexander, A. W.; Sudah, O.; An Improved Powder-Sampling Tool. *Pharm. Tech.* 1999, 23, 92-110.
- Reynolds, O.; On the Dilatancy of Media Composed of Rigid Particles in Contact with Experimental Illustrations. *Phil. Mag.* 1885, 20, 46, 9-82.
- Ristow, G. H.; Simulating Granular Flow with Molecular Dynamics. *J. Phys. I France* 1992, 2, 64, 9-72.
- Robinson, P.; Muzzio, F. J.; Wightman, C.; Brone, D.; Glendon, E. K. End-Sampling Thief Probe. US Patent 5, 996, 426, 1999.
- Shinbrot, T.; Muzzio, F. J.; Nonequilibrium Patterns in Granular Mixing and Segregation. *Physics Today*, March, 2000; 25-30.
- Walton, O. R.; Numerical Simulation of Inelastic, Frictional Particle-Particle Interactions. *Particulate Two-Phase Flow*; Roco, M. C., Ed.; Butterworth-Heinemann: Oxford UK, 1993; 884-911.
- Williams, J. C.; Continuous Mixing of Solids—A Review. *Powder Technol.* 1976, 15, 237-243.
- Brone, D.; Wightman, C.; Connor, K.; Alexander, A. W.; Muzzio, F. J.; Robinson, P.; Using Flow Perturbations to Enhance Mixing of Dry Powders in V-Blenders. *Powder Technol.* 1997, 91, 165-172.
- Chester, A. W.; Kowalski, J. A.; Coles, M. E.; Muegge, E. L.; Muzzio, F. J.; Brone, D.; Mixing Dynamics in Catalyst Impregnation in Double-Cone Blenders. *Powder Technol.* 1999, 102, 85-94.
- Danckwerts, P. V.; The Definition and Measurement of Some Characteristics of Mixtures. *Appl. Sci. Res.* 1952, 3, 279-297.
- DasGupta, S.; Khakhar, D. V.; Bhatia, S. K.; Axial Segregation of Particles in a Horizontal Rotating Cylinder. *Chem. Eng. Sci.* 1991, 46 (5/6), 1513-1517.
- Donald, M. B.; Roseman, B.; Mixing and Demixing of Solid Particles, Part I. Mechanisms in a Horizontal Drum Mixer. *British Chemical Engineering*, 7, 749-753.

(樊忠译)

# 仿制药物及其等效性

Arthur H. Kibbe

Wilkes University, Wilkes-Barre, Pennsylvania, U. S. A.

## 引言

所有批准上市销售的药物一般至少拥有两个名称,即和首先开发这个药物的公司所起的商品名或专利名。这些公司通常被称为原创公司。经世界卫生组织国际非专利命名法委员会(INN)和美国药物命名委员会(USAN)的同意,药物还需指定一个非专有名称或通用名称。通常一个新药首先推向市场都会有一些专利保护,并以一个至少能在专利的剩余保护期限内或其他排他性期限内收回开发成本的价格出售。最后,当药物的保护期失效后,其所谓的竞争保护措施就对其他制药公司不起限制作用了,特别是那些专门致力于销售过了专利保护期限药物的公司或公司的某一部門。这些公司或部门被称为仿制药公司。他们可向相关的管理机构如美国食品药品监督管理局(FDA)申请,允许其以非专有名称或通用名称销售上市同一活性成分的药品。仿制厂商不需要进行完整的临床试验去证明药物的有效性和安全性,因为该药物的有效性和安全性已经验证。当然,厂商还是需要证明其新产品与原有产品是等效的。在本章中,我们把药物定义为有药理活性的化学品,把药品定义为含有药物及制剂所需的其他成分或辅料的制剂产品。开发仿制药品的经济动力是巨大的,尤其是仿制那些获得高度成功的产品。把产品首先带到市场上来的制药公司把价格维持在原先甚至更高的水平,以继续获得利润。这就使得其他制药公司去开发该药物的制剂,以获得批准上市销售,因为大家都知道,即使新产品以原创产品的小部分价格销售,也能获得很大的利润。一些原创制药公司通过宣传其产品的质量和可靠性来保护他们的市场份额。FDA必须在这些争论中充当不偏不倚的仲裁者角色。这些争论很明显与金钱有关,但却是在科学论坛上争论的。争论的关键问题是:“我们能否肯定如果这两种产品用同样的方法用在同样的患者身上会产生相同的结果呢?”当涉及某一药品时,原创制药公司的回答总是“不能”,而第二家和相继的仿制厂商的回答则始终是“能”。在美国,FDA设立了解决这个问题的标准,而科学家们总是质疑现有的FDA标准是否足够好。如果FDA给某一药品的等级评定是A,这实际上是告诉处方医师们,该产品的治疗效应和副作用与原创制药公司的产品是一样的。一本橙皮书专门列举了FDA对药品的等效等级评定。市场上现有仿制药的等级评定几乎都是A,FDA已数十年没有批准达不到A等级的仿制药上市了。最终,消费者消费的价格,要么是进行了无必要研究所致的高价格,要么是仿制药延迟竞争所致的高价格,要么是冒着FDA的标准太宽松的风险消费替

代药品的价格。FDA对仿制药品所要求的试验已经改变。这些试验变得更具有说服力,且基于可靠的统计学。FDA还提高了对仿制药公司的监督水平。因而,FDA对仿制药的管理程序变得更加严厉,而公众持有的对仿制药的安全与有效性的信心程度也得到提升。FDA也经常声明,改用经FDA批准的等效仿制药品尚不存在已知的治疗缺陷。

## 立法和管理历史

在20世纪70年代早期,大多数的州都有反替代法,要求当处方医师用商品名开药时,配药的时候就必须用原创药品。大多数的医生只知道药品的商品名,因而这些法律就确保了仿制替代药品的量处于最低水平<sup>[1]</sup>。美国药学会(APHA)联同其他团体一起推动了这些法律的废止,为仿制药产业的发展打开了通道。由于那时缺乏有效的生物利用度数据,致使(美国)食品药品监督管理局成立了一个仿制药品办。在他们的努力下,FDA在60年代晚期出了一本书——已批准药品及其治疗等效评价。因为封面颜色的缘故,该书后来成为有名的橙皮指南。这本书每年发行一次,按月更新补充。现在在FDA的网站上也找不到其内容<sup>[2]</sup>。

在1984年,药价竞争与专利期恢复法案获得通过。这个法案,也被称为Waxman-Hatch法案,通过制定程序,延长专利权来鼓励新原创药物的发展,同时也加快了FDA批准仿制药品的过程<sup>[3]</sup>。为达成第一个目标,该法案设立了一个制度为原创新药制造厂商延长专利保护期,批准后一般可确保5年的市场保护。为达到第二个目标,该法案为1962年后的仿制药申请制定了一个简化新药申请(ANDA)的批准程序。与之前经完整申请程序批准的药物化学上相等的药物只需证明其生物等效,而不需证明临床等效。根据药物本身的性质,生物等效性证明可通过体外溶出研究、体内单剂量生物利用度研究、体内多剂量生物利用度研究或者综合这些研究来进行。当然,为了简化新药申请(ANDA),单独的体外溶出研究并不足以证明药物的生物等效。

## 仿制药品等效性的科学基础:生物利用度和生物等效性

仿制药品试验的目的不是为了明确药物的临床有效性,而只是确保仿制药品或新制剂与原创药品有一样的相对生物利用度,或与原创药品是生物等效的。

生物利用度定义为测定制剂给药后药物吸收进入体循

环的速度和程度。一次静脉注射的剂量被确定为 100% 的生物利用。其他给药途径所产生的总的生物利用度小于或等于静脉注射的生物利用度。因而, 只有药物被完全吸收入体循环才能产生与标示剂量相当的生物利用程度。除了吸收程度外, 在评估某一特别剂型潜在的治疗影响时, 吸收速度也是关键的因素。了解药物起效时间很重要, 特别是在急性临床表现如哮喘发作, 血糖骤升而休克和疼痛等, 药物作用起效时间与吸收速度直接相关。

特定剂型中的药物的生物利用度受非活性成分的性质或药用辅料和制剂过程的影响(详见本书中药物的生物利用度和生物等效部分)。当对不同厂商生产的相似剂型进行比较, 或对同一厂商不同批次药品进行比较时, 最有用的方法是测定两批产品间的相对生物利用度。一些科学家已在尝试建立一种能够成功预测药品体内生物利用度的体外试验方法。当然, 迄今为止, 还没有任何进展。

药物动力学, 即将动力学原理应用在药物的研究上。它可定义为是对药物在体内的时程和命运的研究。Teorell 因其发表的题为“体内投用物质的分布动力学”的文章开创了药物动力学这门学科, 而常常受到赞颂<sup>[4,5]</sup>。这门学科是应用生物等效性试验来确定同一药物不同剂型间治疗等效的理论支持。药物动力学研究体内药物的第一个方法称为房室分析, 该方法把机体划分为一组药物必须经过的“房室”。这些“房室”本身实际上并不存在, 只是代表导致观察到现象的许多体内过程中的平均值。这种虚构房室的大小是可以计算的, 在了解药物的吸收、分布、消除或代谢过程时十分有用。不管用什么模型, 药物的血浆浓度时间关系曲线可以用多指数方程来描述。浓度时间曲线下的面积(AUC)与药物吸收的数量直接相关。而达到峰浓度的时间和峰浓度本身, 则与药物吸收的剂量和速度都有关系。

房室分析的一个重要局限性是无法普遍地应用于所有药物上。在生物等效试验中, 另外一种比较简单有用的方法是属于非房室模型的方法。这个方法是基于统计矩理论。它用平均滞留时间(MRT)作为体内药物统计半衰期的量度。MRT可以通过一阶矩曲线下的面积(AUMC)除以血浆浓度-时间曲线下的面积(AUC)来计算<sup>[6]</sup>。

本书的其他章节有关这些方面内容的更详细讨论。

## 相对生物利用度或生物等效的测定

在开发的早期, 药品通常都要进行生物利用度试验。那些因为临床试验或稳定性试验的结果需要改变处方的, 或者辅料规格或供应商发生改变的药品, 通常需要制造厂商进行相对生物利用度或生物等效试验, 以确保后继批次的药品与之前药品一样, 能以相同的速率释放相同数量的活性成分。

生物等效研究通常是在控制饮食条件和固定活动量下, 用年轻健康的成年男性志愿者进行试验。这是因为研究的目的不是为了确定药物的临床有效性, 而只是保证两个制

剂处方间有相同的相对生物利用度, 或是生物等效的。

## 主要参数

在进行生物等效评价时, 通常测量以下三个参数来描述所给药物的血浆或血药浓度-时间关系曲线特征:

(1) 峰高  $C_{max}$ , 表示药物在体循环中所能达到的最高浓度;

(2) 达到峰浓度的时间  $t_{max}$ , 表示给药后出现峰高的时间;

(3) 曲线下面积 AUC, 表示浓度-时间曲线下的总积分面积。

前两个参数表示药物的吸收速度, 而第三个参数则与药物从制剂中吸收进入人体循环的程度成正比。图 1 给出了一受试者单剂量给药后的浓度-时间曲线。

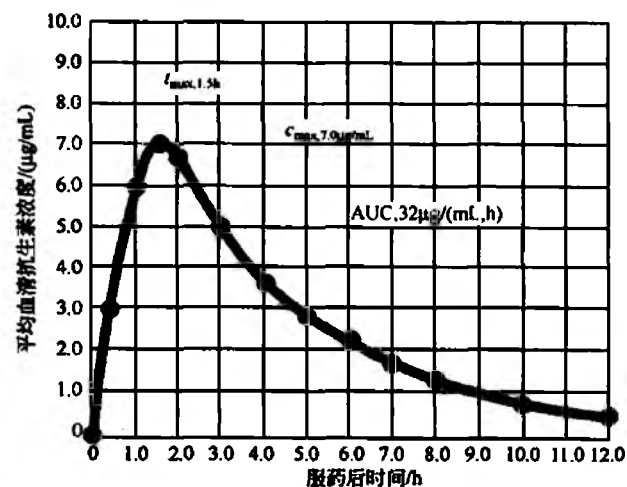


图 1 血药浓度曲线

虽然在理论上可以通过测量药物在尿中出现的速度和程度来测定药物吸收的速度和程度, 但该方法并不如通过血中浓度数据评价药品的生物等效性来得可靠。因此, 证明生物等效的研究通常分成两类: 单剂量研究和多剂量研究(或叫稳态研究)。每种研究都有各自的优点和缺点。单剂量研究的花费较少, 在研究过程中, 健康志愿者所接触的药物也较少。然而, 这些研究的分析方法需要的灵敏度较高, 受试者之间的差异性也较大。在这两种研究中, 常采用交叉研究设计来控制顺序效应。在设计研究时, 应把尽可能多的变量加以控制和考虑。受试者是被随机分配到各个组中的。每个受试者的血样是在给药前和给药后固定的时间间隔采集。目前, 所得到的数据是用适当的方差分析(ANOVA)进行统计的。三个关键参数的平均值和 90% 置信区间都必须符合 FDA 的指南。对口服固体剂型来说, FDA 要求两个产品间参数的比率及其 90% 置信区间经对数转换后, 必须落在 0.8~1.25, 产品才被认为是生物等效的。实际上, 这意味着产品间吸收的速度和程度如相差 10% 以上, 则其仿制不被认为是等效的。

## 目前的科学问题

最近有关仿制药批准的两个问题被提了出来：第一个与“治疗指数狭窄的药物”有关；第二个与使用个体生物等效性代替平均生物等效性有关。Drs. Benet 和 Goyan 曾对前者有过详细的介绍<sup>[7]</sup>。他们总结，在仿制药物之中，治疗指数狭窄的药物经过生物等效证明出现治疗缺陷的可能性最小。平均生物等效数据的使用正受到抨击。这是因为有人担心可能存在一个显著的受试者-产品的相互作用。管理机构（FDA）现在认为事实并非如此<sup>[8]</sup>。使用个体生物等效数据的好处是可保证当受试者和产品的相互作用确实发生时，研究的设计可对此加以控制，对两个产品药物的吸收速度和程度的测量也要采用更为有效的统计学方法。从平均生物等效试验到个体生物等效试验转变的缺点是费用高，需要的受试者数目多，而且要求受试人群具有多样性。关于新方法对生物等效试验可靠性和成本的影响请见其他文章<sup>[9~12]</sup>。

## 仿制药物政治经济学改变

美国现代仿制药产业的真正发展是在 1984 年 Waxman-Hatch 法案通过之后。在法案通过的五年里，仿制药在美国获得 40% 的处方药市场。自那以后，仿制药在处方药市场的份额一直稳定在 40%~50%。当然，仿制药的销售额在美国只有药物销售总额的 10%。这个数据告诉我们，消费者从可用的有相同治疗效果的仿制药替代昂贵的原创药中获得了巨大的利益。

在 20 世纪 80 年代后期，仿制药产业遭受了一个惊人丑闻的打击，75% 的仿制厂商承认一条或多条犯罪指控，这些指控涉及对 FDA 伪造申请文件，向 FDA 人员行贿，或在新兴市场获得不正当竞争优势等相关罪行。令人惊讶的是，这个丑闻只是稍微延缓了仿制药市场份额的提高，消费者也只是在短期内对仿制产品失去信心而已。

这个丑闻与至今仍主宰仿制药厂商经营策略的一个现象紧密相关：抢在其他厂商之前获得药品的批准生产上市。由于该行业的商业本性和行业的相对容易进入，厂商们把大部分的资源和管理人力都投入到使其产品成为第一个或第二个获得 FDA 批准认可的努力中去。一旦某个仿制药品有四个或更多竞争者的时候，那么这个市场上就再也没有多余的利润空间留给其他要进入该市场的仿制药厂商。

典型的仿制药厂商会继续生产利润很少甚至没有利润的药物，因为大部分的买家，即他们的主要客户（连锁药店、小社区药房的购买团体等）喜欢从能提供大部分普通仿制药的公司购买药品。例如，如果某个仿制药厂商不再生产阿莫西林，因为把其抗生素生产设备转成生产其他抗生素后能赚更多的钱，例如头孢菌素，因其竞争对手少，则其原有的一大部分客户可能会选择从其他的两种抗生素都提供的公司购买所需的整个仿制抗生素产品。

有些仿制药公司之所以能盈利，是因为他们找到了能维持对其产品价格进行一些控制的策略。在早先几年里（1984~1988 年），得到 FDA “第一个批准”的最好途径显然是第一个提出申请，第一个完成仿制相对困难药物的分析化验或生物等效研究，或从机构内部找到途径加快批准过程。不幸的是，这一度牵涉到给 FDA 药理学评审专家佣金的问题（那些被指定进行生物学研究结果评估的 FDA 专家，即仿制药申请的关键一环，却没有涉及丑闻）。更多时候，这牵涉到的是向 FDA 传递假信息（少数情况下包括虚假的生物学研究）。很多仿制药厂商都与该丑闻有牵连，即使那些与丑闻脱了关系的也只是在对公司前管理层和所有权进行清除之后。

在短时期内，人们相信盈利的环节不是在生产部门而是在销售部门。如果商品的价格接近成本边缘，而生产成本实际上已达到最小，但对消费者来说，他们消费的价格仍明显地大大超过了成本边缘，这之中某处必定有中间人赚了这笔钱。很明显，那些中间人不是在利润持续被挤压的零售药房。分销商被认为是新的利润中心点。去那家指定银行的途中发生了一件有趣的事……

消费者对飞快上涨的药品价格愤怒了，因为原创制药公司（和某些仿制药公司）蜂拥而上纷纷提高了药品的价格，而仿制药公司在国会委员会和一个联邦大陪审团的调查下，一家接一家地被清除出这个行业。其次，作为对公众关注药品成本的回应，政府对制药工业施加压力，强迫其降低药品价格，并给予联邦政府和州政府的药品采购计划大量的折扣。批发所有药品的分销商们承受了联邦回扣的痛苦。

最后，有些认为他们能从这场丑闻中获得利益的公司进入市场。这些公司是原创制药公司，他们中的多数已在仿制药的分销中扮演着重要的角色。最终，仿制药销售的利润率不足以支持品牌公司的经常开支，他们中的大部分离开了这个市场或是回到他们的分销商角色。甚至那些生产销售拥有自己品牌的仿制产品的公司，在开发和向 FDA 申请 ANDA 方面比纯粹的仿制厂商有更明显优势，且在丑闻调查机构对其相对较少细察的附加优势下，他们中的大部分在最后还是离开了这市场。

一些原创制药公司进入了仿制药市场，这样他们就拥有了一条与他们的新经营策略、疾病状态管理相一致的生产线。这个策略，作为日渐增加的健康维护组织的功能之一和处方药物调配不足概念的回归，将会引起治疗某种特殊疾病（糖尿病、抑郁症等）的连续药物治疗法的发展，对这些患者首先会用较老但较便宜的药物进行治疗，如果这些药物不起作用的话，接着会用下一个较经济有效的药物进行治疗，如此反复直到用最不经济的药物进行治疗为止。不幸的是，选择这个策略的品牌公司发现他们要与医师、医院和保险公司竞争控制个别患者的治疗计划，对那些只有极少量信息和渠道接触个别患者的公司来说是个失败的建议。

另一个以某种竞争形式降低所有药物价格的因素是健



康维护组织 (HMO) 和其药品监控机构 PBM (药品福利管理机构) 的增加。这些药品福利管理机构创建了一个基于相互竞争公司投标的认可药品处方集 (这些认可药品是他们愿意部分或全部报销的)。

大多数公众对于仿制药的困惑来源于药品福利管理机构对医师施加压力, 将同治疗类别的不同化学药互相替换来开处方。这个转换称为治疗置换, 与在不同厂家生产的有相同疗效的药物 (仿制药和原创药或其他 FDA 评级为“A”与“B”的替代药品) 中替换药物不同。治疗置换是把药物替换成另一种不同的药物, 而仿制药的置换是在不同厂家生产的相同药物中替换。如果患者换用药品的 FDA 评级是在“A”与“B”之间, FDA 可以保证这些药品与品牌药或其他评级为“A”或“B”的仿制药品有相同的疗效和副作用。如果患者是在不同的药物之间换用, 则 FDA 无法提供这样的保证, 即使它们的疗效是一样的。例如, 阿司匹林和扑热息痛在治疗头痛时可能一样有效, 但 FDA 不能对此加以证明, 而 FDA 能证明拜耳的阿司匹林和 Safeway 的阿司匹林一样有效。

随着健康维护组织及相关组织和他们的药品福利管理机构 (和相类似组织) 成为主宰, 在 21 世纪一开始就加速了仿制药品对昂贵的原创药的替换。然而, 即使这样的压力也不能减缓处方药品价格的再次大幅提高, 就整体而言, 幅度比处方药消费价格或可比性的整体批发价格的涨幅还大。原创制药公司知道, 为“突破性”药物确定一个非常高的价格, 更加能补偿一个高利润药物失去专利保护后的损失。

此外, 美国是世界上发达国家中唯一一个不明确控制任何药品价格的国家, 而是谨慎地利用大量买家作为市场力量。结果在美国, 那些仍在专利保护下的药品的价格通常都比在世界上任何地方的价格高出很多。仿制药的价格都比较接近成本价格, 除了很少部分打算在一段特殊时期内消除或限制来自其他对手的仿制竞争之外。

那些在价格受限制的环境里成功的仿制药公司, 都有一个或多个适当的药物免于恶性的价格竞争。有些公司掌握了原创制药公司本身都难以掌握的, 能保证药品批与批之间生物等效的生产工艺; 有些公司则利用法律里的某一排他性条款在法庭上赢得挑战某个产品专利保护的诉讼, 表面上似乎支付了诉讼的费用。在其他情况下, 这些案例的解决提供了一些许可或权利分配的形式, 允许在专利保护生效的情况下销售仿制药品。最后, 有一家幸运的公司可能会发现自己独自享有从唯一的仿制药原料供货商处购买原料药的权利。

所有有能力找到必需资金开发销售新药的仿制药公司, 都纷纷涌入这个利润丰厚的市场。眼下, 美国已经选择用市场机制作为其控制药品价格的唯一重要手段。药物的仿制是一种竞争, 而竞争是我们唯一真正控制价格的手段。

根据国会预算办公室 (CBO) 的统计, 消费者在 1994 年因为使用仿制药品而节省下 80 亿~100 亿美元。在 1998 年同样的报告里面, CBO 援引 Waxman-Hatch 法案、国家

通过的仿制药品替代法和政府卫生计划作为核心事件, 正是这些事件使仿制药得到认可, 并节省了费用。

### 参考文献

1. Knoben, J. E.; Scott, G. R.; Tonelli, R. J. Overview of the FDA Publication Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1990, 47 (12), 2696—2700.
2. Food and Drug Administration. Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations; <http://www.fda.gov/cder/ob/FDA>; Rockville; Available from the Government Printing Office, Washington, DC, 2000.
3. Weaver, L. C. Drug Cost Containment—The Case for Generics; Situation in the U. S. A. *J. Soc. Admi. Pharm.* 1989, 6 (1), 9—13.
4. Teorell, T. kinetics of Distribution of Substances Administered to the Body. I. The Extravascular Modes of Administration. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. 1937, 57, 205—225.
5. Teorell, T. Kinetics of Distribution of Substances Administered to the Body. II. The Intravascular Mode of Administration. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. 1937, 57, 226—240.
6. Yamaoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T. Statistical Moments in Pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1978, 6 (6), 547—558.
7. Benet, L. Z.; Goyan, J. E. Bioequivalence and Narrow Therapeutic Index Drugs. *Pharmacotherapy* 1995, 15 (4), 433—440.
8. Patnaik, R. N.; Lesko, L. J.; Chen, M. L. Individual Bioequivalence. New Concepts in the Statistical Assessment of Bioequivalence Metrics. FDA Individual Bioequivalence Working Group. *Clin. Pharmacokinet.* 1997, 33 (1), 1—6.
9. Midha, K. K.; Rawson, M. J.; Hubbard, J. W. Individual and Average Bioequivalence of Highly Variable Drugs and Drug Products. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86 (11), 1193—1197.
10. Snikeris, F.; Tingey, H. B. A Two-Step Method for Assessing Bioequivalence. *Drug Inf. J.* 1994, 28 (3), 709—722.
11. Holder, D. J.; Hsuan, F. A Moment-Based Criterion for Determining Individual Bioequivalence. *Drug Inf. J.* 1995, 29 (3), 965—979.
12. Mohandoss, E.; Chow, S. C.; Ki, F. Y. Application of Williams' Design for Bioequivalence Trials. *Drug Inf. J.* 1995, 29 (3), 1029—1038.

(谢家树 羊 臻 译)



# 放射性化学分析方法

R. Raghavan

Jose C. Joseph

Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U. S. A

## 引言

在核医学领域,含有放射活性的金属、金属复合物和结合物的药物被用于许多疾病的诊断和治疗。用作药物的放射性物质不仅包括同放射性金属结合的有机和无机小分子,也包含诸如单克隆抗体和抗体片断等大分子。核医学已成为一个产值 120 亿美元的医学工业,目前在美国超过三分之一的医院使用放射性同位素进行诊断和治疗。据估计至 2000 年底,美国可能有超过 2000 万例采用放射性药物诊断的案例。成功地使用放射性化学物质需要对放射物、放射性,以及用于检测和定量放射物仪器的原理及特点有一个基本的认识。本文介绍了同放射性和放射性化学测量方法相关的这些应用。

## 原子结构、核稳定性和放射性

原子物理采用复杂的量子力学的数学语言来描述原子的结构。然而, Niels Bohr 于 1913 年描述的原子模型非常简单、形象化,同时也足以让人们放射性现象有一个基

本的认识。Bohr 的原子行星模型包括一个密集的带正电荷的原子核,它被位于已知能量状态轨道上的带负电荷的电子所围绕。原子核由带正电荷的质子和称为中子的中性粒子所组成。质子和中子被非常强大的核引力吸引在一起,两者间的距离非常近(大约  $10^{-13}$  cm)。作为结合能来计算每个原子核的这种强大的力量。原子的电中性由同质子数量一致的轨道电子来维持。这个数量被称为原子序数,以  $Z$  表示。原子(A)和其他粒子的质量以原子质量单位(amu)来描述。amu 被定义为一个碳原子(质量为 12.0000)质量的十二分之一。这些核粒子(核子和电子)的性质被总结在表 1 中。

质子和中子构成的结构被称为核素。原子序数为 1 的氢元素具有三种核素。表 2 中列出了这些核素的特点。

记号:  $X$  被用来表示一种元素的核素。氢元素的 3 种核素被称为氢同位素。 $N/Z=2$  的氚是不稳定的。当  $N/Z$  变得越大,原子核变得越不稳定,以至于导致原子核的崩解以达到稳定的  $N/Z$ ,也即稳定的原子核。这个过程称为放射性衰变。这种放射性过程可自发出现于一些自然核素中,这些核素就被称为具有天然放射性。当这种不稳定性是通过采用高能量粒子轰击稳定粒子而引起时,则称为人工放

表 1 核子和电子的质量、电荷及能量

粒子名称	质量/kg	质量/amu	电荷	能量 <sup>1)</sup> /MeV	备注
电子(e)	$0.9108 \times 10^{-30}$	0.000 549	-1	0.511	—
质子(p)	$1.6721 \times 10^{-27}$	1.007 28	+1	938.8	—
中子(n)	$1.6744 \times 10^{-27}$	1.008 67	0	939.9	—
$\alpha$ 粒子	$6.6465 \times 10^{-27}$	4.003 874	+2	3726.7	$\alpha$ 粒子的结合能为 28.29MeV
$\beta^-$ 粒子	$0.9108 \times 10^{-30}$	0.000 549	-1	0.511	依赖于发射形式具有不同的动能
正电子( $\beta^+$ )	$0.9108 \times 10^{-30}$	0.000 549	+1	0.511	依赖于发射形式具有不同的动能
中微子( $\nu$ )	0	0	0	—	—
光子	0	0	0	—	能量不断变化

1) 能量基于粒子的静止质量。

表 2 氢的核素结构

核素	质子数(Z)	中子数(N)	$N/Z$ ( $n/p$ ) 比值	记号	核稳定性
氢	1	0	0	${}^1_1\text{H}$	稳定
氘	1	1	1	${}^2_1\text{H}$	稳定
氚	1	2	2	${}^3_1\text{H}$	不稳定

## F

放射性。在目前已知的不管是人工还是天然的近 3000 种的元素核素中,其中有 83 种元素的 287 种核素是稳定的,其余都具有不同程度的不稳定性。不稳定的核素通过释放能量和核粒子衰解成稳定的核素。结合能和核稳定性依赖于中子和质子的数量之比 ( $N/Z$  或  $n/p$ )。为了达到稳定,至少需要一个质子。最稳定的重核素为  $^{209}\text{X}$ ,它具有 83 个质子和 126 个中子 ( $N/Z=1.5$ )。总的来说,当  $N/Z>1.6$ ,放射性核素就会释放能量和粒子来重新调整至稳定的  $N/Z$ 。氢的三个核素被称为同位素。核素家族的其他成员是同量异位素和同位素。这些核素的特性列于表 3 中。

### 1. 放射性衰变

不同的放射性物质以不同速度经历着分解衰变。这种衰变的速度是不同核素的特性,它与存在于这一时间间隔起始的放射性核素数量成正比。这个比例常数称为衰变常数,以  $\lambda$  表示。衰变常数是某一放射性原子核在特定时间间隔内衰变可能性的量度。这种衰变是核素的特点,不受压力、温度、浓度及放射核素及其他物理或化学性质的影响。这种常数可方便地采用  $t_{1/2}$  或称为半衰期来描述。放射性核素的半衰期是样品放射性降低到其初始值一半所需的时间。 $t_{1/2}$  与衰变常数  $\lambda$  的关系为:  $\lambda=0.6932/t_{1/2}$ 。

事实上,只有不到 1% 的核素在 7 个半衰期后仍具有放射性。经历 10 个半衰期后,超过 99.9% 的放射性核素将失去其放射性。半衰期指某一纯的核素而言。包含正在衰变的放射性核素混合物的样本,其总的放射性是各个核素放射性的总和。通过相对放射性-时间图可以计算出不同核素各自的半衰期。然而,在实际情况下,这种方法只对含有不多于 3 种核素的混合物有效。在核医学及核药学中经常使用的其他术语还有平均半衰期、生物半衰期和有效半衰期。平均半衰期是核素的平均衰减期,它等于  $t_{1/2}$  的 1.44 倍 ( $1.44 \times t_{1/2}$ )。生物半衰期 ( $t_b$ ) 是生物体通过正常生物消除过程消除一半用药剂量所需的时间。有效半衰期 ( $t_{\text{eff}}$ ) 是一种结合生物排出和放射性衰变的用于反映生物体消除放射性物质速度的量度:  $1/t_{\text{eff}}=1/t_b+1/t_{1/2}$ 。

### 2. 放射性单位

基本的放射性强度标准国际单位 (SI 单位) 是贝可

[勒尔] (Bq)。一个 Bq 等于每秒一次衰变 (dps)。因为这是一个非常小的单位,通常可用 kBq 来表示。而历史上使用的旧放射性强度单位居里 Ci 通常用于放射性药物领域。居里定义为  $1\text{g}^{226}\text{Ra}$  每秒的衰变次数,它等于  $3.7 \times 10^{10}$  dps。其他常用单位为毫居里和微居里 (mCi 和  $\mu\text{Ci}$ )。居里代表了绝对放射性强度 (A)。然而,相对放射性强度 (R) 同测量仪器的效率成正比。这些测量仪器以每分钟计数的形式给出报告。

$R=qA$ ,  $q$  为效率系数。有时采用单位质量元素或放射性标记物的放射性强度或单位容积的溶液的放射性强度来表示特定的强度。在这些情况下,必须明确注明质量或容积的大小。

### 3. 衰变过程

放射性衰变过程包含依赖于特定放射性核素衰变模式的射线辐射。任何衰变过程产生的射线可分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和 (或) 其他射线形式。

#### 3.1 $\alpha$ 粒子

$\alpha$  粒子是一种带双电荷的具有高强度能量的氦原子核。 $\alpha$  粒子产生于较重原子的原子核中。 $\alpha$  粒子的放射是一种最有效的放射性核素以期获得稳定的过程,因为在这一过程中核素既减少了电荷又减少了质量。由于  $\alpha$  粒子很重 (是电子质量的 7400 倍) 并具有双电荷,当它们通过一种介质时会吸引周围介质中的电子,导致介质的离子化。 $\alpha$  粒子失去能量并最终成为氦原子核。在每个离子化过程中,它每次失去 34 eV 的能量。举例来说,每丢失 3.4 MeV 能量产生 100 000 次电离。这些粒子只能移动称之为射程的很短距离。由于  $\alpha$  粒子离子化非常有效,它们会很快地丢失能量。 $\alpha$  粒子的射程在空气中约为 4 cm; 在生物组织中只有千分之几厘米。由于这种巨大的能量转移, $\alpha$  粒子会对暴露于这种射线的器官和组织产生广泛的损害。通常, $\alpha$  粒子会在  $Z$  值大于 83 的元素自然衰变过程中产生。典型的  $\alpha$  衰变过程可表示为:

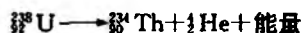


表 3 核素特点

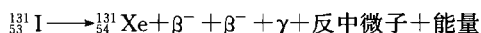
核素	原子序数 (Z)	质量	中子数	化学特性	例子
同位素	相同	不同	不同	相同	$^{16}\text{O}$ , $^{17}\text{O}$ , $^{18}\text{O}$
同量异位素	不同	相同	不同	不同	$^{64}\text{Cu}$ , $^{64}\text{Zn}$ , $^{64}\text{Ga}$
同中子异荷素	不同	不同	相同	不同	$^{55}\text{Fe}$ , $^{59}\text{Co}$ , $^{63}\text{Cu}$ (各含 33 个中子)
同质异能素	相同	相同	相同	相同	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ 和 $^{99}\text{Tc}$

注: m 表示稳态异构体。

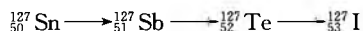
### 3.2 $\beta$ 粒子

$\beta$  粒子是一种从衰变原子核中射出的高速粒子。 $\beta$  粒子具有电子的静质量 (0.000 548 amu)。如果它含负电荷, 则称为负电子; 如果含正电荷, 则称为正电子。通常,  $\beta$  粒子放射指的是负电子 ( $\beta^-$ ) 放射;  $\beta^+$  放射称为正电子放射。举例来讲,  $^{32}_{15}\text{P}$  衰变为  $^{32}_{16}\text{S}$  的过程中导致发射  $\beta$  射线、反中微子和能量的释放。这两种核素的质量差, 0.001 836 amu (P 为 31.965 675, S 为 31.963 839 0), 导致相当于 1.70 MeV 能量的释放。释放能量中的部分被用于粒子的发射, 其余的用于反中微子的释放。因为没有其他能量被释放,  $^{32}_{15}\text{P}$  被称为纯  $\beta$  发射器。有时能量差的一部分可能仍留在原子核中, 并由此使得核素处于核激发状态。激发的原子核会丢失多余的能量, 并以电磁辐射 ( $\gamma$  射线) 的形式回归到稳定的基态。 $\beta$  粒子释放出的能量不是定值, 可从零直到母子原子核间能量差的最大值。这种能量的变异性来自于  $\beta$  粒子和反中微子间能量的分布。

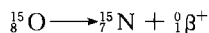
当放射性核素拥有的中子数多于质子时, 为了稳定所需的中子数目, 带负电荷的  $\beta$  粒子即被释放。有时不止一个  $\beta$  粒子被释放。例如:  $^{131}_{53}\text{I}$  衰变时释放出不同能量的 6 个  $\beta$  粒子和 14 个  $\gamma$  射线:



所有这些衰变过程几乎百分之百相当于能量为 0.61 MeV 的  $\beta$  粒子和能量为 0.364 MeV 的  $\gamma$  射线。为了形成稳定核素而进行的衰变可涉及许多不稳定的中间体放射性核素的形成。例如: 如下所示的从  $^{127}_{50}\text{Sn}$  衰变到  $^{127}_{53}\text{I}$  包含了许多中间态核素的形成:



总的来讲,  $\beta^-$  和  $\beta^+$  粒子深度穿透入介质中; 然而, 它们并不对组织和器官造成损害。通过  $\beta$  粒子释放进行衰变的放射性核素被广泛应用于核医学的诊断和治疗。释放正电子的核素被用于诊断目的。释放  $\beta^+$  的放射性核素用于放射治疗的研究很活跃。如下为一个涉及正电子释放的衰变过程的例子:



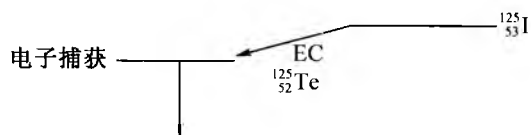
### 3.3 $\gamma$ 射线

在原子核衰变过程中, 一部分能量被用来产生激发态放射性核素。处于激发态的核素是不稳定的。当激发态原子核回到基态过程中, 能量的释放以电磁辐射方式出现。这种放射线称为  $\gamma$  射线。当激发态和最低能量的基态核间的能量差别  $> 100$  keV 时,  $\gamma$  射线就很普遍。因为  $\gamma$  放射是一种电磁辐射, 所以中子数、质量数或原子序数不会改变。因此, 在  $\gamma$  辐射之前总是先出现包含  $\alpha$ 、 $\beta^-$ 、 $\beta^+$  粒子释放的核衰变。

$\gamma$  射线是一种没有电电荷的诸如 X 射线的高能量电磁辐射。就来源来讲,  $\gamma$  射线与 X 射线不同。X 射线来源于轨道电子, 而  $\gamma$  射线来源于核素衰变。 $\gamma$  射线还可通过用高能量撞击轨道电子及将电子撞出原子来使介质发生电离。这些射出的电子引起被称为间接电离的次级电离。 $\gamma$  射线

的穿透度非常高, 其至少有 7 种不同的与物质相作用的过程。然而, 与  $\gamma$  射线作用或产生相联系的、与药物相关的过程为电子捕获、同质异能转换及内转化。下面我们简要讨论这些情况。

电子捕获是一种衰变过程, 在该过程中轨道电子丢失能量并被吸引入原子核中, 结果引起外层电子跳入填补内层的空缺, 导致电子轨道的重组。这种衰变过程导致 X 射线释放, 这些电子接着被吸引并导致弱结合的轨道电子的释放。这些电子称为俄歇 (Auger) 电子。当衰变过程涉及正电子的发射时, 它几乎总是伴随着电子的捕获。作为核反应的结果, 激发放射性核素 (能量大于 100 keV) 通过去激化失去能量。

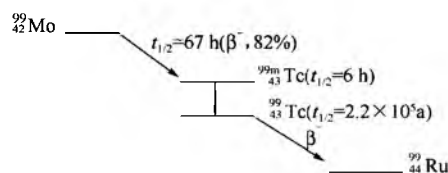


更多情况下, 这些过程以多步骤出现, 并伴有多种能量的  $\gamma$  射线的释放。这样最终  $\gamma$  射线谱对正在衰变的放射性核素来讲是独一无二的; 因此这种独特性可被用来鉴别未知的核素。没有质量和电电荷的  $\gamma$  射线能够穿透入物质并引起系统中其他的化学反应。 $\gamma$  射线被广泛应用于核医学领域。

一个激发放射性核素在到达基态前可能处在数个激发状态。然而, 跃迁可在这些释放  $\gamma$  射线的激发态中出现。这些跃迁称为同质异能转换。当这些同质异能转换明显长时间存续时, 被称为亚稳态。

以下所示为衰变过程的一个例子:

( $\searrow$ —质子数  $Z$  增加,  $\swarrow$ —(左箭头) 质子数  $Z$  减少)



可替代同质异能转换的衰变过程称为内转化 (IC)。在有些情况下,  $\gamma$  能量被 K 层 (内) 电子吸收。这种电子被以更少的能量弹出, 弹出的电子是内转化电子, 这一过程称为内转化。以下为一些用于诊断和治疗的放射性核素及其半衰期。

诊断用放射性核素 (半衰期表示在括弧内):

$t_{1/2}$  单位为小时:  $^{67}\text{Cu}$  (62.0);  $^{67}\text{Ga}$  (78.3);  $^{90}\text{Y}$  (64.1);  $^{117}\text{In}$  (67.9);  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (6);  $^{201}\text{Tl}$  (72)  
 $\{\beta^- \text{ 粒子}\}$   $t_{1/2}$  单位为分钟:  $^{11}\text{C}$  (20.4);  $^{13}\text{N}$  (10.1);  $^{15}\text{O}$  (2.0);  $^{18}\text{F}$  (1.9);  $^{68}\text{Ga}$  (68.0); 和  $^{82}\text{Rb}$  (1.25)  $\{\beta^+\}$

治疗用放射性核素:

$t_{1/2}$  单位为天:  $^{32}\text{P}$  (14.3);  $^{47}\text{Sc}$  (3.4);  $^{67}\text{Cu}$  (2.6);  $^{64}\text{Cu}$  (0.5);  $^{90}\text{Y}$  (2.7);  $^{105}\text{Rh}$  (1.5);  $^{111}\text{Ag}$  (7.5);  $^{117\text{m}}\text{Sn}$  (13.6);  $^{131}\text{I}$  (8.0);  $^{149}\text{Pm}$  (2.2);  $^{153}\text{Sm}$  (1.9);  $^{166}\text{Ho}$  (1.1);  $^{177}\text{Lu}$  (6.7);  $^{186}\text{Re}$  (3.8);  $^{188}\text{Re}$  (0.7)

## F

## 放射检测和测量

## 1. 放射线与物质、电离室和 GM 计数器的相互作用

对核放射的检测和定量是基于它与同装在检测仪器中的物质相互作用而实现。介质中的气体粒子的电离和散射是两种最常见的放射线与物质间的相互作用。放射线引起照相感光乳剂颜色变深、气体或气体混合物的电离或荧光闪烁。在放射学领域，曝光及观察照相底片是最常用的方法。当具有高动能的  $\alpha$  粒子撞击装在容室中的气体时，它们产生大约 40 000 ( $\pm 10 000$ ) 个离子对/cm。 $\alpha$  粒子的射程短（在空气中约 6cm，铅中约  $2\mu\text{m}$ ）； $\beta$  粒子的射程较长，路径不规则，且产生约 100~700 个离子对/cm。图 1 所示的一种典型电离室包含一支置于两个电极之间的含氦气、氩气或气体与空气混合物的密封管子。进入的粒子产生离子对；离子对被分离，并被收集在不同极性的电极上。电子被收集在阳电极上。收集在每个电极上的离子数量也是跨电极外加电压的函数。如果通过测量脉冲（同被收集的电子数量成正比）来量化这种反应，那么脉冲振幅值对应外加电压的点图将会显示响应特点，如图 2 所示。下面对图 2 中的不同区域作一解释。区间 I 称为重组区域。在这一区域中，作为外加电压（ $<100\text{V}$ ）的函数，产生的离子对数成线性增加，而重组比例减少。这不是进行测量的有用区间。在区间 II（100~400V）中，脉冲振幅进入平台期，因为所有形成的离子都被收集。这一区域在电离室中被用来测量  $\gamma$  射线和 X 射线的能量。这一区域也被用来鉴别  $\alpha$  和  $\beta$  粒子，因为每种粒子进入平台期的振幅是特定的。测量高强度辐射场的剂量计和剂量率计在这一区间内工作。在区间 III（400~800V）中，产生的脉冲数量同放射线强度成正比。计量到的脉冲大小反映了产生的初始电离。在这一区域内，初始电子以高能量增益加速。作为在电离室中同气体相互作用的结果，这种高能量引起额外的二次电子的产生。这些二次电子引起进一步电离。净效果是脉冲放大；

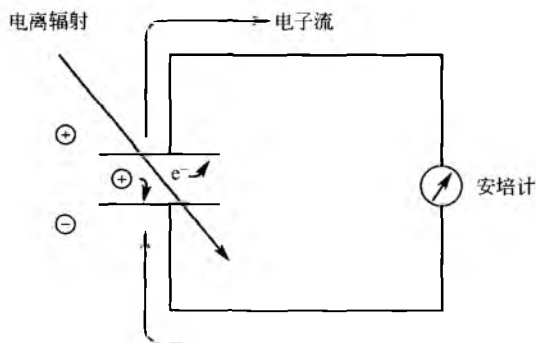


图1 一个简单气体电离室的简图（电子被吸引到阳极板上，阳离子则吸引到阴极板上）

放大的程度是电离室中初始产生的离子程度的 100~10 000 倍。

图 2 中，两条反映曲线对应于两种不同能量的粒子。电离室在这一区域内工作。

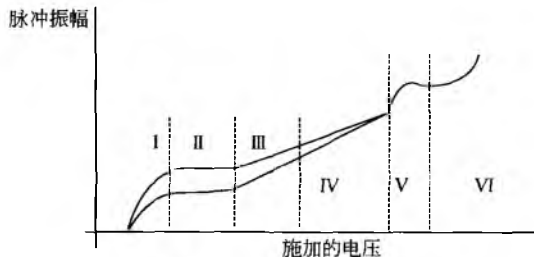


图2 脉冲振幅对施加电压的反应

区间 IV（外加电压 800~1000V）是一个有限比例区域，对检测来说不重要。当外加电压在 1000~1500V 之间时，脉冲的大小不再同触发程度成正比。然而，每个脉冲对应一个单一事件。在这一区域内工作的计数器称为盖革-米勒（Geiger-Müller）计数器或 GM 计数器。GM 计数器是很灵敏的。由于高增益，GM 计数器被用在放射强度低的情况下（如放射性污染）。计数器的读数单位有微伦琴、毫伦琴或伦琴/每小时或以每分钟计。在 GM 计数器内，产生的电离传到整个气体。因此，计数器可能不能在约 100~300 $\mu\text{s}$  的恢复期前对接下来的第二个脉冲发生响应。GM 计数器为了恢复的不响应时间与比例计数器的不响应时间（约 1 $\mu\text{s}$ ）相比要长得多。其次，因为电离室中气体量是固定的，所以气体的纯度下降了。因此根据核管理委员会（NRC）的要求，GM 计数器应使用标准  $^{226}\text{Ra}$  或  $^{137}\text{Cs}$  经常按核管理委员会（NRC）进行校正。当外加电压  $>1500\text{V}$  时会出现持续的放电，这种情况对任何测量都无用。

## 2. 闪烁检测仪

当放射线同某些称为荧光体或磷光体的物质相作用时会产生称为闪烁的光闪。闪烁被感受元件检测到的，并被放大、分类及计数记录。闪烁检测仪包括孔式计数器、扫描仪、泰罗探针和称为俄歇相机的闪烁相机。除此之外，所有这些仪器都由一个准直管（孔式计数器除外）、光电倍增管、一个高压电源、一个放大器、一个增益控制单元、一个脉冲振幅分析器和用于合适显示的设备或计算机组成。闪烁相机也包含坐标定位（X，Y）电路。

## 固态检测仪

这些检测仪由半导体材料制成。在这些检测仪中，固态电极由涂过 Si 或 Ge 的 Li 制成。分辨率对 1MeV 的  $\gamma$  射线来说约为 1~2keV，有时通过以下所述的碘化钠 NaI（Tl）闪烁检测仪分辨率可以有 10 倍以上的提高。碘化钠闪烁检测仪市场有售，并被更广泛应用于研究级仪器。

闪烁磷光体及其应用见表 4。

表 4 闪烁磷光体及其应用

被检测粒子	所使用的磷光体	特点/备注
$\alpha$	塑料闪烁体薄片或包埋于透明袋中的硫化锌	磷光体被包裹于非常薄的铝化聚酯薄膜中以避光。 $\alpha$ 粒子由于低穿透能力，在闪烁体中丧失了所有能量。 $\beta$ 和 $\gamma$ 粒子产生比 $\alpha$ 粒子更小的脉冲，因此通过适当调节鉴别器的设置只能对 $\alpha$ 计数粒子
$\beta$	通常使用单晶体蒽；反二苯乙烯。有时也可使用涂以蒽的萘	对于 $\beta$ 粒子计数，尤其是从 $^{14}\text{C}$ 和氚释出的低能量粒子，常使用液态闪烁体（见下面液体闪烁体部分的讨论）
$\gamma$	使用涂以碘化铊的碘化钠 $[\text{NaI}(\text{Ti})]$ ；出现于 0.1~0.4% 钠的铊发出 420nm 的闪烁光。这种磷光体由于碘的高原子数和碘化钠的高密度对吸收 $\gamma$ 辐射非常有效	碘化钠被密封。通常被用于孔式计数器。典型的用于实验室和核医学照相领域的孔式计数器见图 3 和图 4

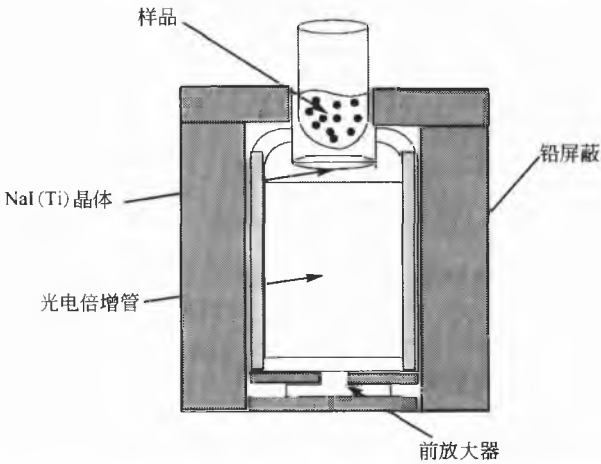


图 3 用于测量  $\gamma$  射线的一个典型的流体孔道式计数器

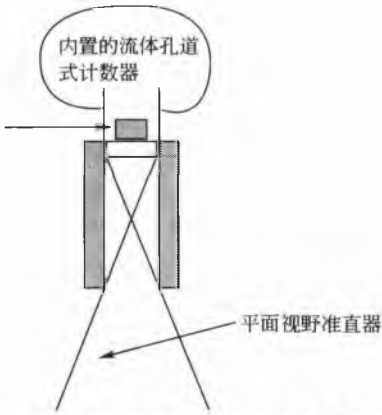


图 4 应用于核医学领域的典型流体孔道式计数器

3. 液体闪烁体（仪）

放射性核素样品被溶解于称为闪烁鸡尾酒的液体闪烁体中。液体闪烁体由两种主要成分组成，第一种是主要溶剂，如甲苯、二甲苯或 1, 2, 4-三甲基苯（伪枯烯）；第二种成分是在约 380nm 处发射紫外光的荧光体溶质 2, 5-二苯噁唑。闪烁鸡尾酒也可能包含以下一项或更多成分：

- 第二种溶剂，如二噁烷，用来改善水性样品的溶解性，或表面活性剂用作乳化剂，如十二烷基苯磺酸钠；
- 第二种闪烁剂，使释放出的光子波长（约 380nm）移到一些光电倍增管的响应波长（约 420nm）；
- 一种或多种辅助剂，使生物组织悬浮或溶解。

以下为闪烁检测仪其他部件的简要介绍。

3.1 光电倍增管

光电倍增管具有一种称为光阴极的光敏感电极，当光子撞击它时会释放出电子。接着通过一系列称为打拿极的电极一步步外加约 100V 电压至约 1000V 时，将电子从光阴极加速到光电倍增管的阳极。在光电倍增管中产生二次电子导致  $10^5 \sim 10^8$  个电子的脉冲。一般来讲，一根有

10 个打拿极的光电倍增管可以传送约  $4^{10}$  个电子。这种增益或放大取决于打拿极电压。

3.2 前置放大器

虽然产生了如此大量的二次电子，但是仍不足以产生足够的电流。电压脉冲被前置放大器在不损失功率情况下放大 4~5 倍。前置放大器也提供需要的驱动力来防止在数英尺长连接线中的损失。

3.3 线性放大器

从前置放大器接受到的脉冲具有较大的粒子能量差别。放大器的增益为 8000，当一个 1mV 的信号被放大到约 8V 时，仍能保持从粒子（常为  $\gamma$  射线）传到检测仪的能量的比例性。放大后的脉冲接着被传送到脉冲振幅分析仪。

3.4 脉冲振幅分析仪（PHA）

从放大器传出的脉冲由于能量不同常具有不同的振幅。脉冲振幅分析仪本质上是能量分类器。单通道 PHA 记录某一振幅的脉冲数，而多通道分析仪（MCA）扫描整个能量范围并记录每个通道中的脉冲数。举例来说，通过使用

## F

MCA 可记录  $\gamma$  射线光谱。这些使用 MCA 的仪器称为  $\gamma$  射线光谱仪。MCA 最多可具有 4000 个通道。

### 3.5 X-Y 定位电路

这是只有闪烁相机（俄歇相机）才具有的，被用于核医学研究。有 19~91 个光电倍增管被置于相机内的 NaI (Tl) 晶体上，这些晶体通常较厚。被光耦合于晶体背面的光电倍增管的数目可根据晶体的大小和形状来确定。同其他位置不同的光电倍增管相比，最靠近作用点的光电倍增管会吸收大量的光。这些光电倍增管吸收的光量同它们所对的角度成正比。因此，必须控制并了解闪烁相机的 X-Y 定位，这样  $\gamma$  射线的 X-Y 坐标可被精确分析。这些数据被储存于计算机中，并接着被处理或记录于一次成像相纸或 X 光片上。

### 3.6 闪烁检测仪的检测效率

充气检测仪同闪烁检测仪一样，观察到的计数速率通常小于实际放射性核素的衰变速率。在相同条件下，使用相同类型检测仪时，各粒子间的检测效率也可能不同。影响检测效率的因素有工作电压、分辨时间、所用仪器与样品位置间的几何关系、定标器、能量分解、小池的吸收，有时还包括样品的成分本身，例如：闪烁鸡尾酒有时会相当大地减低计数值。这一效应为猝灭。为了准确测量放射性强度，需要对猝灭进行合适的校正。

为了使仪器检测效率的降低留有合适的余地，需要采用适当的标准对经常仪器进行校正。这种校正标准可从（美国）国家标准和技术研究所（NIST）获得。USP 也提供了新的校正标准所需的核衰变数据。USP 24 为以下放射性核素标准列出了  $t_{1/2}$ 、光子能量和每次衰变的光子数： $^{137}\text{Cs}$ ， $^{137\text{m}}\text{Ba}$ ， $^{22}\text{Na}$ ， $^{60}\text{Co}$ ， $^{57}\text{Co}$ ， $^{54}\text{Mn}$ ， $^{109}\text{Cd}$ ， $^{109}\text{Ag}$  和  $^{129}\text{I}$ 。

## 4. 断层成像仪

断层摄影术是利用从目标获取的大量二维切片图像来构建三维图像的一种处理过程。计算机断层成像术利用精确的数学算法来重构这些图像。当使用放射性核素发射时，称为发射断层摄影。有两种常用技术被用来获取发射断层摄影术的图像，它们是单光子发射计算机断层成像术（SPECT）和正电子发射断层成像术（PET）。在 SPECT 中，使用了  $\gamma$  发射核素，而在 PET 中，使用了正电子发射核素。在 SPECT 系统中，使用围绕目标成一小角度（ $3^\circ\sim 10^\circ$ ）的许多俄歇相机对目标进行拍照。拍摄的总跨度可在  $0^\circ\sim 180^\circ$  或在  $0^\circ\sim 360^\circ$ 。因为旋转的相机提供二维数字图像，它们被以  $64\times 64$  像素（对于  $180^\circ$  跨度）或以  $128\times 128$  像素（对于  $360^\circ$  跨度）的数字信息方式储存。俄歇相机在检测头采用 NaI (Tl) 晶体。在 PET 中，使用正电子发射核素。从这些放射性核素中发射出的每个正电子穿过组织、沉积能量，并最终与电子反应而湮灭。这种湮灭导致两个能量为 0.511MeV 的朝反方向（ $180^\circ$ ）运动的光子的形成。两个俄歇相机以隔开  $180^\circ$  方式放置，但它

们距目标的距离相同。每个相机在同一时间检测一个光子。通过适当地成对移动相机，从许多角度收集数据并以  $64\times 64$  或  $128\times 128$  像素形式储存。如此，这种通过同步检测的电子准直增加了灵敏度，并减少了像 SPECT 那样对使用准直仪的需求。PET 的额外优点包括容易获取在有机分子中常见的短半衰期的放射性核素（如 F，N，C 和 O）（有关用于 PET 的放射药物的其他要求详情请见 USP 24）。

## 放射性化学物质分析

放射化学分析方法比其他化学方法要灵敏得多。大多数光谱分析法能在百万分之几（ppm）水平进行定量，而原子吸收和一些结合紫外线、荧光和电化学法的 HPLC 方法能在十亿分之几（ppb）水平进行定量。通过控制特定活性水平，运用放射化学分析有可能达到低于 ppb 水平的元素定量水平。放射化学分析在大多数情况下可以不分分离析物而进行分析。根据衰变和以上检测步骤中所述的粒子能量特点来鉴别放射性核素。放射化学分析法包括示踪法、活化分析和放射免疫分析技术。

### 1. 示踪剂和示踪分析法

放射化学示踪剂或放射示踪剂是标记有放射性同位素的化合物。对示踪法来说，需对被测量的化合物或合适的试剂进行放射标记。在样品-试剂反应系统中对示踪剂重分布的测量提供了所需的定量分析信息。示踪剂方法的主要优点是灵敏度高、简单而且快速。放射性示踪剂更经常被用于追踪生物和（或）化学过程的机制，尤其是在生物过程中需要避免复杂的分离步骤的情况下。

#### 1.1 同位素稀释分析

在同位素稀释分析中，将一个具有已知特定活性的已知量的放射标记化合物被加到已知量的含有组成稳定同位素所需的相同化合物的未知混合物中。接着，经放射性示踪剂稀释的样品成分被彻底混合以形成同质混合物。这一经同位素稀释的具有已知稀释程度的混合物接着被处理以分离出少量的期望成分。通过测量特定活性来确定分离出来部分的放射性同位素成分。从稀释前后示踪剂特定活性的变化可以计算出混合物中成分的浓度。这一方法的主要优点是这些分离程序无需定量，当然，要求分离出的化合物纯度足够满足活性测定。同位素稀释分析法被用于无机示踪元素及生物系统中有机化合物的测定。如果需要分离而放射性同位素浓度不足以分离时，可采用具有相似化学行为的非放射性化合物（载体）来进行稀释。例如：如果准备沉淀放射性锶，而锶的量少得无法被定量沉淀，这时可以在沉淀前加入钙使其同钙盐共沉淀。同位素稀释法的一个备选方法，即反同位素稀释法，可通过用无放射性化合物稀释来测定放射性化合物的量。当一个系统包含一未知量的具有已知特定活性的经放射性标记的物质时可运用此方法。

## 1.2 放射性同位素交换

为了理解有机或生物反应的机理和动力学特性,可以使分子或离子中的非放射性原子同合适的放射标记化合物进行交换。在标记的化合物同测试样品(在两种溶液中元素的化学形式是不同的,如 $\text{CH}_3\text{I}$ 中的碘与标记过的碘化钠中的 $^{131}\text{I}$ )完成化学交换后,元素的特定活性在样品和试剂中就变成相同的了。测量到的试剂中活性的降低或样品中活性的增加就可同样品中元素的量相关联。同位素交换分析法是非常灵敏、快速和特异的。同位素交换在药物动力学研究中扮演着非常重要的角色。例如:一种药物分子可被标记上氙来跟踪药物的分布。如果没有采取合适的预防措施来避免潜在的同位素交换反应,则未标记的化合物或附近的水分子进行的氙交换可能会导致对药物分布的错误分析。

## 1.3 放射性示踪剂用作放射性药物:用于放射性药物分析的方法

当放射标记过的化合物(放射性示踪剂)被用于诊断和治疗目的时,它就被称为放射性药物。放射性药物应容易生产、价廉、易得、具有相当短的半衰期且最好能发射能量在 $30\sim 300\text{ keV}$ 的 $\gamma$ 射线。这样一种处于发射 $\gamma$ 射线的核素总是通过电子捕获或同质异能转换而衰变。当使用发射正电子的核素时,它们必须在期望器官或组织中有特异的分布,且不能导致不适当的辐射。用作药物的放射性示踪剂采用以下两种方法之一进行制备:不是作为核裂变反应的产物就是作为高能量加速器粒子或中子诱导的核反应的产物。粒子加速器是一种通过诸如质子、重氢核及电子这类高加速和高质量的粒子撞击目标核素来引起核反应

的仪器。为了生成放射性药物,要使用被称为回旋加速器的现场加速器。如要生成发射正电子的放射性核素,要使用线性加速器。可移动的、用作短暂存在的放射性核素源的仪器称为发生器。通常,在发生器中长期存在的母核素可用于被衰变为短暂存在的子核素。利用它们化学性质的不同,子核素可从母核素中分离。与药物相关的典型放射性核素及它们的来源总结于表5中。

放射性药物是一种用作药物的放射性化学物质。因此,作为药物,它们应具有合适的离子强度、pH、等张性和渗透压。除了化学纯度外,放射核素纯度和放射化学纯度也必须确定。放射性核素纯度指的是所需放射性核素的放射性量与其同位素及其他同位素杂质放射性总量的比值。放射性核素纯度通过测量放射性核素的半衰期及其他放射特性来确定。放射化学纯度指的是总放射活性在期望形式中的分数。放射化学杂质一般是化合物分解形成的化学杂质,然而所有形成的杂质可能仍有放射性。潜在分解途径与任何其他药物相同,例如酸和碱的水解产物、氧化和还原产物、附加放射性分解产物以及化学物质的光化学和热分解产物。举例来说,在许多经 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记的复合物中,游离的、未反应的 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 和水解的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 是放射化学杂质。用于检测及确定放射化学杂质的分析方法有许多,例如:当使用HPLC从感兴趣的放射化合物中分离杂质时,如果使用放射化学检测器,则可定量所有被分离的放射性杂质及确定放射性化合物纯度。这些方法包括但不限于蒸馏法、沉淀法、纸色谱法、薄层色谱法、凝胶色谱法、HPLC法、离子交换法、溶剂萃取法和其他分离及纯化技术。这些技术的原理与其他任何药物所使用的方法是相同的,因此,不在这里赘述。

表5 放射性核素及其产生方式举例

产生方式	反应堆	加速器	发生器
生成的放射性核素 → (一些例子)	$^{99}\text{Mo}$ , $^{131}\text{I}$ , $^{137}\text{Cs}$ , $^{33}\text{Xe}$ , $^{32}\text{P}$ , $^{51}\text{Cr}$ , $^{125}\text{I}$ , $^{135\text{m}}\text{Ba}$ , $^{195\text{m}}\text{Pt}$	$^{123}\text{I}$ , $^{57}\text{Co}$ , $^{67}\text{Ga}$ , $^{201}\text{Tl}$ , $^{111}\text{In}$ , $^{127}\text{Xe}$ , $^{81}\text{Rb}$ ; 以下产生正电子 的核素被就地生成: $^{11}\text{C}$ , $^{13}\text{N}$ , $^{15}\text{O}$ , $^{18}\text{F}$	$^{99}\text{Mo} \rightarrow ^{99\text{m}}\text{Tc} \rightarrow ^{99}\text{Tc}^{(1)}$ , $^{113}\text{Sn} \rightarrow ^{113\text{m}}\text{In} \rightarrow$ $^{113}\text{In}$ , $^{87}\text{Y} \rightarrow ^{87\text{m}}\text{Sr}$ , $^{81}\text{Rb} \rightarrow ^{81\text{m}}\text{Kr} \rightarrow ^{81}\text{Kr}$ , $^{195\text{m}}\text{Hg} \rightarrow ^{195\text{m}}\text{Au} \rightarrow ^{195}\text{Au}$ ; 其他用于发生器 反应的元素包括 $^{68}\text{Ge}$ , $^{62}\text{Zn}$ , $^{137}\text{Cs}$ 和 $^{82}\text{Sr}$

1) 衰变以下列顺序显示:母体→子体→第二代子体。

## 1.4 活化分析

活化分析是一种样品基质中的目标跟踪元素被核反应堆中粒子辐射的过程。作为结果,形成了被激化的放射性核素。这种特有的粒子释放出的 $\gamma$ 射线被用于定性鉴别及更经常用于定量测定。最常用的活化分析是中子活化分析(NAA)。在这一技术中,含元素的样品被反应堆中的中子照射。照射后,随即从处于衰变中的放射性核素中产生 $\gamma$ 射线的释放。这可用合适的半导体放射检测仪进行定量。

通过检测 $\gamma$ 射线的特定能量可鉴定核素。这些特定的能量值对应于衰变中核素独一无二的能量特征。例如:当 $^{24}\text{Na}$ 衰变为 $^{24}\text{Mg}$ 时,释放出的 $\gamma$ 射线具有独特的能量,能量为 $1.268\text{ MeV}$ 和 $2.754\text{ MeV}$ 。 $\gamma$ 射线计数对能量的点图显示出了 $\gamma$ 射线谱;曲线下的面积与样品放射性强度成正比。 $\gamma$ 射线释放率与放射性核素的浓度成正比。当采用合适的仪器定量未经分离的单一样品基质中的许多元素时,称为仪器中子活化分析。当样品基质中有光谱干涉及采用了化学分离法来分离元素的,就称为放射化学中子活化分析。当其他带电粒子产生被用于活化分析时,称为带电粒子活化分

析 (CPAA)。CPAA 被应用于确定表层元素浓度。

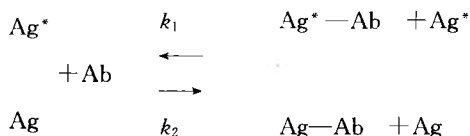
所有的活化分析法是非常准确和灵敏的, 可以容易地获得约为 2% RSD 的精度。根据不同元素和样品基质, 容易获得十亿分之几或更高的检测精度。多达 60 种不同的可组成放射性核素的元素可使用 NAA 进行分析。NAA 在其他领域也有广泛应用, 总结于表 6 中。

表 6 中子活化分析的应用

应用领域	典型应用
地质	元素沉积或形成的特点
环境科学	大气、土壤和水污染
工业工程	侵蚀和摩擦效应
农业	营养不良
化学研究	放射污染、参考标准的描述、表面效应
法医学	样品鉴定、样本与犯罪现场相关性

## 2. 放射免疫测定

放射免疫测定 (RIA) 是一种基于形成抗原-抗体复合物的分析技术。这种技术基本上包含了同位素稀释分析的应用。抗原是种相对分子质量 > 10 000 的能在动物体内刺激抗体产生的特有蛋白质。抗原随后同抗体结合。抗原通常在患者样本中被检测到, 成为分析物。对抗体来讲, 标记过的和未被标记过的抗原混合物应加入得比抗体数量多, 以使需要同抗原结合的抗体数量不足。这样的话, 两种抗原便竞争性地同样品中的有限抗体结合。放射免疫测定混合物中的反应可描述如下:



式中:  $k_1$  和  $k_2$  为速率常数;  $k$  为平衡常数,  $K = k_1/k_2$ 。

对于固定量的标记抗原和抗体, 未标记抗体的增量被累积。初始添加量仍多于结合所需的抗体量。作为标记抗原和未标记抗原竞争性反应的结果, 加入的未标记抗原浓度越高, 则结合的标记复合物 ( $\text{Ag}^* - \text{Ab}$  复合物) 的量越少, 因此游离 (未结合) 的抗原也越多。经孵育在特定温度和时间达到平衡后, 分离未结合的  $\text{Ag}^*$ , 通过测量放射性核素的放射活性来确定结合的标记抗原的量。通过作图 (结合的标记抗原的百分比对加入的抗原浓度) 便可算出未知抗原的浓度。一些放射性核素, 如  $^{14}\text{C}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{99}\text{Mo}$  和  $^{57}\text{Co}$  已被用于 RIA 分析。最早使用的分离方法包括电泳和色谱分析。现今商业厂商推出了 RIA 试剂盒, 内有详细的 RIA 原理、使用方法、灵敏度、精确度和特定场合使用限制等描述。RIA 分析是一种非常快速、灵敏、特异且便宜的方法, 对复杂样品基质中大生物样品来说尤其如此。

RIA 技术被应用于以下分析: 激素、固醇类、多肽、

妥布霉素及艮他霉素等氨基糖苷类、胰岛素、许多免疫球蛋白、不同类型的病毒性肝炎、血浆儿茶酚氨、血管紧张素转换酶、包括维生素  $\text{B}_{12}$  在内的许多维生素、人类生长激素、许多叶酸衍生物等等。许多市场上有售的 RIA 分析试剂盒包括一系列已知浓度的未标记抗原标准品、一管标记抗原、一管抗体溶液和适当的沉淀剂或其他分析工具。

## 放射安全

当放射线能量被组织吸收时, 依据吸收的剂量会出现化学键的断裂并引起细胞和组织的损伤。吸收小的剂量, 这种损伤可能会在多年中没有临床表现。放射性损伤通过吸收剂量来测定。剂量被定义为每单位质量物质获得的能量。吸收剂量国际单位为戈 [瑞]  $1\text{Gy} = 1 (\text{J/kg})$ 。传统的吸收剂量单位为拉德 (rad)。 $1\text{Gy} = 100\text{rad}$ 。不过, 所有放射线的有效性是不同的。放射有效性依赖于粒子的性质、组织或器官的厚度和施用该剂量物质或器官的特点。因此, 为了解释这种有效性的差别, 采用了另外一个称为“剂量当量”的术语。剂量当量的国际单位为西韦特, 其剂量数值相当于 Gy 乘以一合适的对应于生物组织或器官的加权因子。例如: 针对许多组织的加权因子  $W_R$  为 0.3, 而骨表面的  $W_R$  为 0.03。放射加权因子也依赖于粒子的能量, 例如: 对于能量小于 10 keV 的中子  $W_R = 5$ , 而能量大于 100 keV 的中子  $W_R = 20$ 。

对于放射药物的使用剂量, 包装内会附一张表, 其中列出了对大多数患者来讲的使用剂量。这一信息用来进行放射性剂量的计算。如需要, 医生将根据 MIRD 委员会的推荐计算出使用剂量。

使用放射量测定器可测量由于职业原因受到的电离辐射。目前市场上有三种不同型号的放射量测定器, 它们是袖珍放射量测定器、胶片式胸章和热发光检测仪 (TLD)。袖珍放射量测定器是一种基于 GM 计数的数字计量器, 它能立即给出读数。胶片式胸章是最便宜及最普及的, 通过在胶片盒中使用合适的滤片可测量到曝光于不同粒子的准确读数。胶片式胸章的主要缺点是需要有冲洗、处理胶片的等待时间。在热发光检测仪中, 接收到的放射线被储存在含有 LiF 晶体或锰激活的氟化钙的盒中。接着在测量过程中晶体被加热至所需温度使之发光。这种发射出的光提供了放射吸收剂量的测量手段。

## 法规要求

在操作使用和处置放射性物质和放射药品时应该遵守政府及相关组织机构的规定。这些机构包括 FDA、NRC、运输部门、环境保护局和职业安全及健康部门。在这些机构中, FDA 管理放射性药品的安全性、稳定性、有效性和毒性。NRC 管理所有反应堆产品和副产品的使用、操作和处置, 及使用这些设备时的人员安全保护。美国联邦管理法第 10 条 20 款包含了对放射防护的规定, 35 款阐述了放



射物质的医学用途。第 49 条关注于放射物质的包装和运输。除此之外,所有 USP 的要求必须适用于放射药品。国际放射防护委员会(ICRP)和美国国家放射防护委员会(NCRP)向其他管理机构提供可接受的放射剂量推荐。NRC 要求许可证遵循 ALARA 有关辐照的原则。ALARA 是英文“as low as reasonably achievable”的缩写,即尽可能地少但获合理的成功。在 ALARA 的概念下,当工作人员接受的核辐射超过职业允许剂量 10% 时,就需要进行调查。如果超过 30%,根据 NRC 的要求需要进行调查和采取纠正行动。

同其他任何药物一样,用作药物的放射性示踪剂也应符合所有条例规定。放射性药物的生产商至少必须满足 NRC 和 FDA 的要求。

### 参考文献

1. Alfassi, Z. B. *Chemical Analysis by Nuclear Methods*; John Wiley & Sons; Chichester, UK, 1994.
2. Anderson, C. J.; Welch, M. J. *Chem. Revs.* 1999, 99, 2219.
3. Bernier, D. R.; Christian, P. E.; Lanagan, J. K. *Nuclear Medicine Technology and Techniques*, 4th Ed.; Mosby: St. Louis, MO, 1997.
4. Bhargava, K.; Du, J.; Raghavan, R.; Joseph, J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J. S., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 13, 255—281. and References Contained Therein.
5. Britton, K. E.; Granowska, M. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnostics and Treatment*; Murray, P. C., Ell, P. J., Eds.; Churchill Livingstone; New York, NY, 1994; 2, 779—800.
6. Chattel, J. F.; Mahe, M. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnostics and Treatment*; Murray, P. C., Ell, P. J., Eds.; Churchill Livingstone; New York, NY, 1994; 2, 865—876.
7. Collier, B. D.; Krasnow, A. Z.; Hellmann, R. S. *Skeletal Nuclear Medicine*; Collier, B. D., Fogelmann, L., Rosenthal, L., Eds.; Mosby: St. Louis, MO, 1996.
8. Early, P. J.; Sodee, D. B. *Principles and Practice of Nuclear Medicine*; Mosby: St. Louis, MO, 1995.
9. Ehmann, W. D.; Vance, D. E. *Radiochemistry and Nuclear Methods of Analysis*, Vol. 116; *Chemical Analysis*; John Wiley & Sons; New York, NY, 1991.
10. Helmer, R. G. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th Ed.; Kroschwitz, J. L., Howe-Grant, M., Eds.; John Wiley & Sons Inc.; New York, NY, 1996; 20, 871—906.
11. Kist, A. A. *J. Anal. Chem.* 1996, 51, 80, (Transl. of *Zh. Anal. Khim.*).
12. Kolesov, G. M. *J. Anal. Chem.* 1996, 51, 71, (Transl. of *Zh. Anal. Khim.*).
13. Lazewatsky, J. L.; Crane, P. D.; Scott, Edwards, D. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th Ed.; Kroschwitz, J. L., Howe-Grant, M., Eds.; John Wiley & Sons; New York NY, 1996; 20, 930—962.
14. Marek, M. J.; Lambert, C. R.; Rhodes, B. A. *Techniques for Direct Radiolabeling of Monoclonal Antibodies*; RhoMed Incorporated; Albuquerque, NM, 1994.
15. Mettler, F. A.; Guiberteen, M. J. *Essentials of Nuclear Medicine*, 3rd Ed.; W. B. Saunders Co.; Philadelphia, PA, 1991.
16. Muller, S. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnostics and Treatment*; Murray, P. C., Ell, P. J., Eds.; Churchill Livingstone; New York, NY, 1994; 1, 195—212.
17. Perkins, A. C. *Nuclear Medicine in Pharmaceutical Research*; Perkins, A. C., Frier Eds.; Taylor and Francis; Philadelphia, PA, 1999; 15—30.
18. Pimm, M. V. *Nuclear Medicine in Pharmaceutical Research*; Perkins and Frier Ed.; Taylor and Francis; Philadelphia, PA, 1999; 133—162.
19. Powsner, E. R.; Widman, J. C. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed.; Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Eds.; W. B. Saunders Co.; Philadelphia, PA, 1999; 113—132.
20. Powsner, R. A.; Powsner, E. R. *Essentials of Nuclear Medicine Physics*; Blackwell Science Inc.; Malden, MA, 1998.
21. Saha, G. B. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*, 3rd Springer-Verlag; New York, NY, 1992.
22. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. *Principles Instrumental Analysis*, 5th Ed.; Harcourt Grace College Publishing; Chicago, 1988; 810—828.
23. Stroebel, H. A.; Heinemann, W. R. *Instrumental Analysis; A systematic Approach*; John Wiley & Sons Inc.; New York, 1989.
24. Spencer, R. P. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnostics and Treatment*; Murray, P. C., Ell, P. J., Eds.; Churchill Livingstone; New York, NY, 1994; 2, 647—665.
25. Taillefer, R.; Tamaki, N. *New Radiotracers in Cardiac Imaging, Principles and Applications*; Appleton and Lance; Stamford, CT, 1999.
26. United States Pharmacopial Convention, United States Pharmacopoeia; 24th Revision; New York, NY, 2000, 1981—1990; USP Convention.
27. Volkart, W. A.; Hoffmann, T. J. *Chem. Rev.* 1999, 2269.
28. Weber, D. A.; Eckermann, K. F.; Dillman, L. T.; Rayman, J. C. *MIRD Radionuclide Data and Decay*

F

- Schemes; New York Society of Nuclear Medicine, 1989.
29. Yalow, R. S. J. Chem. Ed. 1999, 76, 767.
30. Ekin, R. P. J. Chem. Ed. 1999, 76, 769.
31. Ullmann, E. F. J. Chem. Ed. 1999, 76, 781.
32. [http: /www. psich. /www. lrp. hn/lrp](http://www.psich. /www.lrp.hn/lrp).
33. [http: /www. triumf. ca/safety/rpt/html](http://www.triumf.ca/safety/rpt/html).
34. [http: /www. brighamrad. harvard. edu/education/on-line/ BrainSPECT/](http://www.brighamrad.harvard.edu/education/online/BrainSPECT/).
35. [http: /www. research. atlantech. fr/Topic](http://www.research.atlantech.fr/Topic).
36. [http: /www. fz-rossendorf. de/FWB/fwbc/handzet/](http://www.fz-rossendorf.de/FWB/fwbc/handzet/).
37. [http: /www. anl. gov. /labDB/current/Ext/](http://www.anl.gov./labDB/current/Ext/).
38. [http: /www. catcmb. cua. edu/receptor. html](http://www.catcmb.cua.edu/receptor.htm).
39. [http: /www. tardis. jyu. fi/ECRIS/rip](http://www.tardis.jyu.fi/ECRIS/rip).
40. [http: /www. fkpi. com/Release \\_ Comp/Releases/International/](http://www.fkpi.com/Release _ Comp/Releases/International/).
41. [http: /www. radio-isotopes. com/nucmed. html](http://www.radio-isotopes.com/nucmed.htm).

(石敬教 译)

## 非处方药

Sujit S. Sansgiry

Lynn Simpson

Gauri Shringarpure

Amit Kulkarni

University of Houston, Houston, Texas, U. S. A.

## 引言

在 19 世纪, 生产商使用反映当时国家文化水平和大众品位需求过度的促销技术来销售产品。有关产品及其功能夸大的陈述非常普遍。而职业标准和伦理道德空前低迷, 以至于几乎不存在。患者在繁多的药品中做出选择时, 常感到困惑并对产品的用法一无所知。这样, 绝大多数的这类患者中在病症较轻时, 会选择使用家庭治疗和自我保健就不足为奇了。在今天, 消费者通过可及时获得的大量信息, 能够自主决定绝大多数的医疗保健, 使自我保健发生了飞跃发展。

尽管每个国家所销售的药品种类和数量可能不同, 但在世界各地都可以将药品简单地分为两类, 即需要医生处方才可以获得的药品和不需要处方即可获得的药品。后一类产品一般称为非处方药或 OTC (over-the-counter) 药品, 也是本章讨论的内容。在本章中非处方药和 OTC 药品是相同的。

## 自我保健和自我药疗

当消费者购买和使用 OTC 药品时, 他们就介入了俗称的自我药疗过程。因此, 非处方药就是不需要事先通过医疗保健专家许可, 就可以合法获得的用来进行自我药疗的产品。OTC 药品主要用于某些急性和慢性疾病的预防、治疗和症状缓解。这些药品不是用来治疗需要执业医师关注和指导的严重和复杂的疾病。然而, 提供 OTC 药品的主要设想是当消费者需要时就能够方便获得。

目前, 通过向消费者提供可以很容易获得的由 800 多个有效活性成分组成的超过 10 万个上市 OTC 药品, OTC 药品在美国的健康保健体系中起到重要的作用。消费者可获得的 OTC 药品有不同的类别, 适用于治疗头痛到胃酸分泌过多引起的问题等轻症。表 1 列出了 OTC 药品可以治疗的症状或状况。表 2 显示了 2001 年度美国销售前 20 位的 OTC 药品<sup>[1]</sup>。这些销售榜上名列前茅的药品与消费者报告中最常进行自我治疗的一些轻症相对应(表 3)<sup>[2]</sup>。

表 1 选定可通过非处方药物治疗的病症

擦伤	尿布疹
痤疮	腹泻
疼痛 (一般, 轻到中度)	皮肤干涩
白蛋白检测	痛经
过敏反应	消化不良
过敏性鼻炎	女性卫生保健
贫血	发热
关节痛	胃肠气胀
哮喘	胃炎
脚痛	牙龈炎
细菌感染 (局部的、浅表的、不复杂的)	脱发
大水疱	口臭
血压监控	头虱
疖	头痛
灌肠制剂 (诊断用)	胃灼热
灼伤 (轻度, 热性)	痔疮
结茧	脓疱病
念珠菌阴道炎	消化不良
口疮	嵌甲
痢	虫咬和虫叮
皮肤皸裂	失眠症
唇疱疹	时差症
伤风 (病毒性上呼吸道感染)	股癣
充血 (胸、鼻)	晕动症
结膜炎	肌痛
便秘	恶心
隐形眼镜护理	营养 (婴儿)
避孕	肥胖
鸡眼	粪便中的隐血 (检测)
咳嗽	造瘘术护理
刀伤 (浅表性)	排卵预测
头皮屑	牙周疾病
营养缺乏症 (矿物质、维生素、经肠吸收营养)	咽喉炎
牙齿护理	蛲虫感染
皮炎 (接触性)	月经前综合征、怀孕 (诊断)
糖尿病 (胰岛素、监测仪器、其他供应品)	瘰子
	牛皮癣
	轮癣
	皮脂溢

续表

鼻炎	鹅口疮
戒烟	牙痛
扭伤	呕吐
肌牵张过度	疣(普通疣、扁平疣)
腮腺炎	口干
晒伤	伤口护理
出牙	

表2 最畅销 OTC 药品前 20 位<sup>[1]</sup>

排名	产品名
1	贴牌品牌内服止痛片
2	Tylenol 牌内服止痛片
3	贴牌品牌治疗伤风/过敏/鼻炎片/包
4	Advil 牌内服止痛片
5	Nicorette 牌戒烟口香糖
6	Aleve 牌内服止痛片
7	贴牌品牌急救用药膏/消毒剂
8	Benadryl 牌治疗伤风/过敏/鼻炎片/包
9	Nicoderm CQ 牌戒烟贴
10	贴牌品牌抗酸片
11	Bayer 牌内服止痛片
12	Tylenol PM 牌内服止痛片
13	贴牌品牌的治疗伤风/过敏/鼻炎药液/药粉
14	Pepcid AC 牌抗酸片
15	贴牌品牌轻泻片
16	Halls 牌咳嗽/咽喉痛滴剂
17	Vicks Nyquil 牌伤风/过敏/鼻炎药液/药粉
18	Zantac 75 牌抗酸片
19	Excedrin 牌内服止痛片
20	Motrin IB 牌内服止痛片

表3 消费者使用 OTC 药物治疗的一些轻症<sup>[2]</sup>

OTC 分类	使用率/%
头痛	81
伤风/咳嗽/流感/咽	72
喉痛	
皮肤病	68
胃灼热/消化不良	66
过敏/鼻炎	58
月经前综合征	53
便秘/腹泻	49
肌肉/关节/后背痛	49
胃部不适/恶心	46
轻微眼疾	46
牙/牙龈问题	30
更年期综合征	19

OTC 药品是有效的化学实体,与处方药品相同,应关注其药理、毒理、禁忌、用途、副作用、可能的药物相互

作用和有效性,应特别关注剂量和给药方法。有必要指出许多 OTC 药品在未转变为 OTC 药品之前是作为处方药使用的。因此,像处方药一样,谨慎地促销和使用 OTC 药品是很重要的。

## 自我保健和自我药疗运动

自我保健/自我药疗运动始于 20 世纪 70 年代晚期和 80 年代早期。在此期间,自我保健和自我帮助取得了巨大的进步,体现在消费者积极的健康态度并要求介入疾病及其治疗方式的决定过程。计算机和互联网等先进技术使消费者可以迅速获得大量的医学知识。21 世纪的消费者可以对自己的个人健康进行管理并评估是否需要专业医学治疗介入<sup>[3]</sup>。另外,他们通过饮食、锻炼、OTC 药品、草药补品或其他形式的补充保健,独立地控制自己的症状和身体健康。当消费者倡导为其健康使用预防药物进行保健规划时,这些行为即“自我保健”运动所指<sup>[2]</sup>。自我保健就是消费者为自己建立和维持健康以预防和治疗疾病所做的一切,而自我药疗是指由个体自己选择和使用药物来治疗能够自行诊断的症状和疾病。从广义上来说,自我药疗只是自我保健的一个部分<sup>[4]</sup>。大量研究显示,自我保健在美国消费者中正成为明确的趋势,消费者对自我药疗感到越来越满意。根据消费者保健品协会[CHPA,以前称为非处方药生产商协会(NDMA)]所做的调研,59%的受调查者认为他们比过去更有可能管理自己的健康状况<sup>[5]</sup>。另外,77%的消费者在患有日常小病时,更愿意使用 OTC 药品。这个数字将近是愿意去咨询医生或使用处方药人数的 2 倍。这说明了一个事实,了解使用 OTC 药品的知识并恰当、有责任感地使用是自我保健的重要部分。当消费者把 OTC 药品和处方药一起使用时,就可能造成某种药物使用过量的自我药疗问题。在一项研究中,消费者被给予个人教育课程,结果表明,这能更有效地改变消费者自我药疗习惯<sup>[6]</sup>。已显示 OTC 药疗是一项常见的自我保健行为,因此当在记录用药史时应收集患者使用 OTC 药品的数据<sup>[7,8]</sup>。

## 消费者为何使用 OTC 药品?

选择进行自我药疗使消费者实现并增强了控制自身健康的愿望。消费者使用 OTC 药品的一些重要原因包括方便、价廉、节约时间以及他们的态度、价值观和信仰<sup>[9]</sup>。消费者在遇到各种健康问题时有 38%的情况求助于 OTC 药品<sup>[9]</sup>。众所周知,美国消费者比世界任何地方的消费者更多地使用 OTC 药品。每年这些药物的销售超过 300 亿美元<sup>[10]</sup>。近年来,OTC 药品的销售稳步上升。表 4 提供了各类 OTC 药品 5 年的销售趋势分析<sup>[11]</sup>。尽管已经达到了这样的大容量,OTC 药物花费只占用了个人医疗保健支出每美元中的不到 2 美分<sup>[12,13]</sup>。使用非处方药除了临床和经济上的好处外,92%的消费者对他们在自我保健中使用的药品是满意的<sup>[14]</sup>。

表 4 OTC 药品按主要大类销售趋势<sup>[11]</sup>

OTC 类别	销售额/10 亿美元				
	1996 年	1997 年	1998 年	1999 年	2000 年
痤疮治疗	270	274	286	307	352
止痛药和胸部摩擦	271	268	263	275	308
抗酸药	1883	1220	1224	1232	1189
止泻药	190	196	209	219	222
防毒气药	134	141	153	164	178
止汗药	1550	1598	1658	1741	1767
消毒剂	121	125	128	135	136
止睡产品	44	43	43	44	43
戒烟产品	286	562	564	623	664
食欲抑制剂	92	89	88	77	88
幼儿护理品	71	74	77	83	93
咳嗽/伤风治疗药品	3135	3279	3260	3578	3514
滴耳液	33	33	35	38	39
眼部护理品	510	528	545	556	522
妇女保健品	521	527	527	542	547
急救用品	437	472	520	538	552
足部制剂	357	396	443	488	504
头发生长产品	137	152	151	127	121
股癣	26	28	32	37	42
轻泻药	744	772	826	870	915
唇部护理品	217	227	230	269	301
运动症预防	34	35	36	40	43
口腔护理	2360	2402	2509	2625	2678
疼痛治疗	2889	2985	3027	3207	3185
凡士林	57	58	57	61	61
直肠药品	177	171	176	178	185
皮肤漂白药品	26	26	26	27	39
助睡眠剂	98	99	99	112	124
遮光剂/晒伤药品	281	321	332	375	385
其他	252	263	277	299	308
合计	17 203	17 364	17 801	18 867	19 105

这不仅给消费者带来好处,同时也使社会受益。通过负责任的自我药疗给医疗保健系统节约资源,使有限的医疗保健资源和医生的时间得到更好的分配,去解决那些超过自我保健范畴的更重要的问题。如果每个患者生了一点小病都要去看医生的话,将会对医疗保健系统产生不可想象的巨大经济负担。医疗中心将不堪重负,无法有效率地工作,因为事实上平均每个美国人 3~4 天就会经历 1 次可以自我治疗的健康问题。另外,将近 90% 的美国人在每个月中至少有 1 次或更多时间认为自己身体不适。将近 70% 的消费者进行常规的自我药疗,预计有 40% 的美国人口在 48h 内至少使用过一种非处方药品<sup>[5]</sup>。因此,能够方便获得 OTC 药品可能是美国消费者优先考虑的问题。

## OTC 药品的可获得性和滥用

与其他国家不同,由于这些盛行的观点,OTC 药品几乎在美国的任何地方都可以获得。甚至自动售货机管理条例也允许使用机械装置或自动售货机出售 OTC 药品。这些

药品在互联网上也能广泛获得,可能造成了大量青少年滥用 OTC 感冒咳嗽药品的情况。美国毒品控制中心协会 2001 年度的统计数据表明:涉及滥用非处方咳嗽和感冒药或自我伤害的案例从 1999 年的 9889 例上升到 2000 年的 13 393 例<sup>[15]</sup>。服用含有右美沙芬和氯苯那敏等成分的复方制剂时,可以感受到滥用麦角酸二乙基酰胺(一种麻醉药品)的快感<sup>[14]</sup>。不幸的是,大量摄取这类药物会对心血管系统和中枢神经系统造成伤害,可能会出现幻觉、谵妄、体温升高和眩晕的情况。另外,许多此类产品中还含有对乙酰氨基酚(APAP),当高剂量使用时会造成肝脏毒性。药剂师们用很多办法来限制患者获得这些易被滥用的药品。最常用的办法就是把药品放到看不到的地方<sup>[16]</sup>。其他的手段有向顾客提出额外的问题、提供建议、限制产品售出的数量<sup>[16]</sup>。药剂师们应能意识到这些药物的错误使用,并忠告消费者正确的使用方法和超量服用的危害。

与美国不同,许多国家把 OTC 药品进一步划分为不同的子类。表 5 包含了世界各地有关 OTC 药品的信息。例如,在英联邦,P 类的 OTC 药品只能在注册药店中执业药师的监控下才能售出,而在普通销售表中的 OTC 药品,在任何的零售终端都可以销售。近年来,在美国有人考虑划分出只能在注册执业药师的监控下才能售出的第三类 OTC 药品<sup>[17]</sup>。这个变化使更多的产品成为 OTC 药品,因此许多消费者和医疗保健提供者均赞成这项运动。然而,要对这类产品进行限制有困难,特别是在农村地区。因此,这个建议仍在争议中。

表 5 世界各地的自我保健产业网站

组织名称	网 址
欧洲自我药疗产业协会 (AESGP)	<a href="http://www.aesgp.be">http://www.aesgp.be</a>
澳大利亚自我药疗产业	<a href="http://www.asmi.com.au">http://www.asmi.com.au</a>
中国非处方药协会	<a href="http://www.cnma.org.cn">http://www.cnma.org.cn</a>
美国消费者保健品协会 (CPHA)	<a href="http://www.chpa.org">http://www.chpa.org</a>
加拿大非处方药生产者协会	<a href="http://www.ndmac.ca">http://www.ndmac.ca</a>
英国专利协会	<a href="http://www.pagb.co.uk">http://www.pagb.co.uk</a>
印度药品生产者组织 (OPPI)	<a href="http://www.indiaoppi.com">http://www.indiaoppi.com</a>
日本专利协会	<a href="http://www.otc.gr.jp">http://www.otc.gr.jp</a>
世界自我药疗产业 (WSMI)	<a href="http://www.wsmi.org">http://www.wsmi.org</a>

## 信息来源

患者通过不同的来源可以接触到有关 OTC 药品的大量信息<sup>[3]</sup>,包括包装标签、广告、健康保健专家的建议、书籍、杂志、各类期刊及其他家庭成员,但不仅限于此。然而,必须意识到让消费者能够从 OTC 药品的正确标签中得到关键信息的价值和意义。对于消费者来说,产品包装标签是最重要的信息来源之一,因为其在购买和使用时提供信息。为了确保消费者使用 OTC 药品的安全性和有效性,FDA 已经制定了所有商品制造者必须遵守的详细规则<sup>[18]</sup>。这些规则将在接下来的讨论中详细阐述。

## F

## OTC 人用药品：标签要求——FDA 规则

改革 OTC 药品标签的运动始于 20 世纪 90 年代，加利福尼亚的苏沙利多药师计划服务机构与不同的社会团体组织起来，请求 FDA 为 OTC 药品标签印刷体大小和式样制订标准<sup>[19]</sup>。随后，FDA 在美国《联邦纪事》中发布了民众请求及对 OTC 药品标签要求的摘要的公告。1991 年，NDMA 召集了一个专门工作组，由他们对广泛的文献进行综述并确定了 4 个可能影响 OTC 药品标签易读性的因素<sup>[19]</sup>。这些包括改进 OTC 药品标签必要的医学性、理解性、描述及技术因素。这些因素记载在 NDMA 标签可读性指导原则中，并包括一系列药品企业可以自愿采用的建议<sup>[19]</sup>。在 NDMA 推荐其指南后，FDA 进一步征求公众对印刷字体、字形、颜色和各種标签设计技术的意见来增加标签的可读性。

美国药学会（APhA）建议特别注意标准格式中的四个方面信息，包括主要用途、剂量、注意事项和主要副作用，以及活性成分<sup>[19]</sup>。一项由 Sansgiry 和他的同事进行的研究使 FDA 确信 OTC 药品标签需要新的管理规则<sup>[20]</sup>。这个研究得出结论，OTC 药品标签印刷字体太小，消费者读起来十分困难<sup>[20]</sup>。最终，在 1999 年 3 月，FDA 发布了标题为“OTC 人用药品：标签要求”的新指南，规范 OTC 药品标签上的信息<sup>[18]</sup>。

新的标签格式要求以用户友好的格式向消费者传递重要的信息，并向消费者提供更新的信息，有关最适合他们健康状况的 OTC 药品及其利益和风险。FDA 给首次实施这些规则的 2002 年大部分产品 6 年的时间采用新标签格式<sup>[21]</sup>。标签改变的时间依赖于每个产品的最后各论日期。一个药物如果在要求期限后没有新标签会认为误标并面临 FDA 的强制执行。标签格式应包括标准化的药品情况表格，包括药物的活性成分、目的、用途和警告的信息<sup>[22]</sup>。例如，图 1 就是一个新格式的标签。其他建议改进的项目包括更易读的 6 磅 Helvetica 字体，标准的内容顺序，文本的字、词和行之间的充足空隙。图 2 包括一些有关推荐的新 OTC 药品标签指南某些方面的说明<sup>[23]</sup>。

## OTC 药品的选择

当选择 OTC 药品时，消费者能够理解这些药品的局限性和风险是很重要的。他们应该得到教育，使用购买的 OTC 药品不应该超过标签建议的使用时间和剂量。如果症状持续不转好就应立即就医。向消费者指出每次购买产品时应完整地阅读标签是很重要的。许多时候，同一个商标的两个产品并不代表它们可用来治疗同一种症状或含有同样的活性成分。这些内容将在“OTC 药品商品名混乱”部分说明。

FDA 认为消费者在选择 OTC 药品时最好的方法就是小心地阅读标签并在使用前有疑问时咨询药剂师或医生。当选择产品时，消费者要小心对待许多问题，特别是产品的警告事项。消费者在做购买决定前需要审查和评价的重

要标签部分见表 6。

药物情况	
活性成分（每片）	目的
马来酸氯苯那敏 2mg	抗组胺
用途：暂时缓解枯草热引起的症状或其他上呼吸道过敏症状； ■ 喷嚏 ■ 流涕 ■ 流泪，眼睛发痒 ■ 喉咙发痒	
警告 如果你有以下情况，使用前请咨询医生： ■ 青光眼 ■ 如肺气肿或慢性支气管炎等呼吸问题 前列腺肥大导致的排尿困难	
如果正在服用镇定剂或镇静剂，在服用前请向医生或药师进行咨询	
当使用本品时： ■ 会造成嗜睡 ■ 避免饮酒 ■ 酒精、镇静剂或镇定剂会增加嗜睡感 ■ 在驾驶机动车或操作机器时要当心 ■ 可能发生兴奋，特别是儿童	
如在怀孕和哺乳期间，使用前要咨询健康保健专家 放在儿童不易取到的地方。一旦服用过量，应立即就医或联系 毒品控制中心	
使用指导	
成人及 12 周岁以上的儿童	每 4~6 小时服用 2 片 每 24 小时不得超过 12 片
6 周岁以上，12 周岁以下的儿童	每 4~6 小时服用 1 片 每 24 小时不得超过 6 片
6 周岁以下的儿童	请咨询医生
其他信息 在 20~25℃（68~77°F）条件下存放 ■ 避免过度潮湿	
非活性成分 D&C 十号黄色、乳糖、硬脂酸镁、微晶纤维素、预胶化淀粉	

图 1 提议的 OTC 药品标签格式举例<sup>[18,23]</sup>

因素	FDA 的建议
清晰、容易阅读的字体	Helvetica 或 universe 字体 每英寸不超过 39 个字母
小标题	粗方体或圆体，5 磅
正文	文字左对齐排列
连字符	不使用
只使用大写字母和小写字母	不能全部是大写字母
字体	6 磅（黑色）

图 2 OTC 药品标签的新 FDA 指南<sup>[19,21,22]</sup>

表 6 消费者在购买时应注意的 OTC 药品标签上的内容部分

号码	项目	注释
1	产品名称	是否是推荐的产品
2	活性成分	药品中发挥治疗作用的物质
3	目的	药品类别（如抗组胺剂、抗酸剂或止咳药）
4	用途	治疗或预防的疾病或症状
5	警告	何时不应使用，何时应停止使用，何时应去就医，及可能发生的副反应
6	指导	服用量，如何服用，服药间隔时间

续表

号码	项目	注释
7	其他信息	如储存信息等
8	非活性成分	如黏合剂、着色剂、矫味剂等物质。有些消费者可能会对其中某些成分过敏
9	有效期	保证药品未过期,或在正常使用期限内不会失效
10	防破坏/防儿童开启包装	确保所有防破坏包装是完整的,否则不要购买。没有儿童安全容器的每个产品最好能有单剂量包装,以方便老年人和体弱者用药

能增加消费者阅读标签能力的办法是保证药品陈列点有充足的光线。60岁的人与30岁的人相比,阅读同样字段需要强3倍的光线<sup>[19]</sup>。年老者或视力受损者建议在阅读标签时配戴眼镜或使用放大镜来改善视力。

## FDA 对 OTC 药品的审查和管理

美国有关药品管理的第一条法规是1906年的《纯食品和药品法案》。这个重要的联邦法案仅要求药品符合制造者声称的强度和纯度。直到由沙利度胺事件的负面报道促成的1938年《联邦食品、药品和化妆品法案》公布后,药品的安全性才真正有了法律保障。此法案对处方药和非处方药没有明显的区分,而声称所有药品对其声称的用途都必须保证安全。在此法案中没有提及有关药物的有效性问题,但对标签有规定条款,要求标签必须要有显眼的和充分的使用说明,能使普通消费者在购买和使用容易读懂和理解<sup>[24]</sup>。1951年的《德拉姆-韩福瑞修正法案》建立了处方药和非处方药的区分标准。处方药类别中包括易上瘾或造成毒性的药物。那些用于无法自行诊断和需要一定专业技术才能使用而超出普通消费者的能力范围的也属于处方药。这条法规不要求处方药标签以消费者为目标,因为这类药品只有通过有处方资格的医生才能获得。

1962年通过的《食品、药品和化妆品法案的克发尔-哈里斯修正案》,要求药品不仅要证明是安全的,还要证明其对预期用途的有效性。1938年前上市的药品不受新规则的约束,但是在1938年后上市的4500种新药,其中包括512种OTC药品,将接受FDA的重新审查,一旦不符合有效性规定,就立即撤市。1966年FDA在与美国国家科学院/国家研究理事会(NAS/NRC)签订协议后,开始了一项称为药效研究实施的程序,对这些产品的有效性进行评估。很快就发现非常需要对市场上的OTC药品进行更大范围的检查。1972年,FDA开始对30万个不同处方中的700多种活性成分展开大规模的科学审查,以确保它们采用安全、有效和合理的标签。这个过程通常称为“OTC药品评审”,通过重新划分,许多药品从处方药转为非处方药,并建立了正确标签的法规。由17名专家组成的小组为此工作了将

近10年。制造者们必须向小组提交科学文献以显示其产品的有效性。而这些专家为每一个成分建立了各论,发展了抗酸剂的测试程序,从市场上撤离了白天用的镇静剂,建立SPF标准,推广防破坏包装,设立牙膏磨损指数,并对含有阿司匹林产品发布阿司匹林-雷耶氏斯综合征的警告。

## 药品的批准过程

1938年的《FDC法案》要求所有的新药,包括1938年后上市的新药,上市前必须证明其对人类是安全的,并通过上交的新药申请(NDA)提前进行澄清。然而,FDA审查所有非处方药的安全性、有效性和标签,并不考虑其何时上市。1938年《FDC法案》把市场上的产品划分为新药,法律定义为经过验证必须是安全 and 有效的(RASE)和公认为安全 and 有效的药品(GRASE)。在第一阶段,建立的审查小组提前发出提议制定规则的通知。此时将药品归为3个不同的类别之一:

- 第一类——GRASE;
- 第二类——不认为是安全 and 有效的(NRASE);
- 第三类——无充足的证明可证实是安全有效的。

然后进行评审的第二个过程,其结果决定该产品在深入审查期间能否继续上市,或是否需要制造者们改变处方以使产品进入第一类。在此阶段,FDA会给予制造者一个发布在联邦注册部的暂定各论。最后的规定,第三阶段,也在联邦注册部发布,说明产品是否安全有效(第一类)并符合各论的要求,或产品被认定为不符合各论的要求(即第二类和第三类)。这会给予制造者必要的时间在产品上市前证明其产品是安全有效的。

## 新药申请程序

通常,得到获FDA OTC审查批准的非处方药认可的一种方法是通过NDA。对于法律定为NRASE的产品来说,必须提交NDA,直到它获得FDA的预批准或批准。通过OTC药品审查,超过40种基本药物从原来的处方药重新分类转为非处方药。除了通过OTC药品审查程序外,还有3种途径可实现这种转换<sup>[24]</sup>。如果有临床研究资料证明药物可以作为OTC药品的适应证或OTC药品的剂量批准,制造者可以递交一份NDA。如果FDA认为一种药物作为处方药对于药品的安全和有效使用不是必需的,FDA自身也可对药品重新进行类别划分。

如果药品上市后的安全经历可以证明药品可以不在医生的监控下安全使用,则可以提交NDA补充申请。对于考虑作为OTC药品销售的药品,应符合一定的标准:

- (1) OTC药品的适应证要与作为处方药使用时的大致相同,必须方便患者自我诊断和监测。
- (2) 药物应没有不利的副反应事件和药物相互作用。药物毒性应相对较低,滥用的可能应较小。
- (3) 药物的治疗指数不应很低,不需要特殊的监测或

实验室程序来确定毒性和治疗效果。

(4) 药物应不存在其他会造成 OTC 使用不可实行的标准。

## 处方药品向 OTC 药品的转换

近年来,有趋势把许多原来仅作为处方药品使用的产品作为 OTC 药品上市。这些原因包括专利到期、增加市场份额和消费者的需求。然而,慢性病仍是转换的一大障碍,绝大多数成功转换的药物都用来治疗急症(如头痛)<sup>[26]</sup>。这是因为用 OTC 药品治疗慢性病会产生自我监控方面的问题。处方药品转换为 OTC 药品对医疗保健经济产生重大影响。最近转换成功的药品见表 7。研究表明:考虑到购买处方的费用、拜访医生的费用、保险费用和耽误工作而损失的费用,这些转换可以节约美国人数十亿的美金<sup>[27]</sup>。处方药转换为 OTC 药品对医疗保健花费的总影响是很难预计的<sup>[28]</sup>。华尔街日报近期预计 65 岁以上老人的医疗保健费用的 30%~50% 用于处方药。一个 1997 年的研究显示通过将处方药转变为 OTC 药品,美国消费者节约了大约 130 亿美元<sup>[27]</sup>。还有信息表明一个妇女在已经诊断为复发的真菌感染时使用经转换为 OTC 药品的阴道抗真菌药品时可以节约超过 80 美元。另外,有人认为消费者每年至少从咳嗽/感冒药物的转化中节约 750 美元。由于从处方药向 OTC 药品的转化,1976~1994 年每年减少了 11 万为普通感冒向医生寻求建议的患者<sup>[29]</sup>。自处方药转化的 OTC 药品占美国总 OTC 药品市场的 30%<sup>[27]</sup>。

表 7 近期处方药转向 OTC 药品的举例

产品名称	生产商/销售商	适应证
Actron (酮洛芬)	Bayer Corp. Consumer Care	口服止痛
Axid AR (尼扎替丁)	Whitehall-Robins Healthcare	减少胃酸
Lamisil AT (盐酸特比萘芬 1%)	Novartis	抗真菌
Lotrimin Ultra (盐酸布替萘芬 1.0%)	Schering-Plough	足癣、股癣、金钱癣
Monistat 3 (硝酸咪康唑 4.0%)	Advanced Care Products	抗念珠菌
Orudis KT (酮洛芬)	Whitehall-Robins Healthcare	口服止痛
Pepcid AC (法莫替丁)	Johnson & Johnson-Merck	减少胃酸
Rogaine (米诺地尔 5.0%)	Pharmacia-Upjohn	促进头发生长
Tagament HB (西咪替丁)	SmithKline Beecham	减少胃酸
Vagistat-1 (三康那唑 6.5%)	Bristol-Myers	抗念珠菌
Zantac 75 (盐酸雷尼替丁)	Warner Wellcome	减少胃酸

## 处方药转化为 OTC 药品的类型

处方药向 OTC 药品的转化分为两类:完全转化和部分转化。如果一个产品的所有剂量规格都转化为 OTC 药品,没有保留为处方药的,此类转化就可以称为完全转化。这类转化的一个例子就是尼古丁戒烟口胶。尼古丁戒烟口胶,2mg 和 4mg 的规格均作为 OTC 药品用于戒烟。如果产品的一种或多种剂量规格只能通过正规的医生处方获得,或公司生产较低浓度的剂量规格作为 OTC 药品而高浓度剂量规格的产品仍作为处方药,此类转化就称为部分转化。这类转换的一个例子就是萘普生钠制剂。Aleve,作为转换为 OTC 药品,每片含有 220mg 的萘普生钠;而仅作为处方药使用的 Anaprox,每片含有 275mg 的萘普生钠。把仅作为处方药使用的药品转变为 OTC 药品有很多益处。“药品重新划分为 OTC 药品的益处”部分将会从制造者、消费者和健康保健提供者的角度来讨论转换带来的益处。

## 药品重新划分为 OTC 药品的益处

对于药品制造者来说,一个药品可以销售更长时间确实是一个好处。通过把一个专利即将到期的产品转为 OTC 药品,扩大了产品的市场潜能并允许制造者们收回早期用于上市药品的投资。这种转化还允许制造者们进入不同的竞争市场。转化为 OTC 药品后的销量一般为先前处方药销量的 2 或 3 倍<sup>[30,31]</sup>。由于顾客购买 OTC 药品时一般都倾向于购买知名度更高的品牌,因此,先前作为处方药的产品在转化后往往能够占据大的市场份额。美国市场上的领军销售产品有 50% 是从处方药转为 OTC 药品的产品<sup>[29]</sup>。

患者也能从处方药转换为 OTC 药品中受益。当原先仅作为处方药的产品被重新划分为 OTC 药品后,允许患者进行自我药疗并获得更多自己健康的控制权<sup>[31]</sup>。在一些曾经要求医疗建议的情况中尤其正确,如戒烟。患者可以把以往拜访医生的时间和金钱节约下来。已证实自 1% 的氢化可的松转化 OTC 药品后,消费者每年大约可节约 1.5 亿美元<sup>[32]</sup>。

当越来越多的产品转为 OTC 药品,并且患者从可获得的资源寻求建议时,药剂师作为自我保健指导者的作用更加突出。尽管制造者发布了一些有关他们生产的 OTC 药品的使用小手册,但药剂师的建议仍然是必要的。药剂师应该是药物治疗的专家并处于了解患者希望知道哪些问题的最有利位置,并回答那些与患者个人健康息息相关的问题。由于出现了越来越多的 OTC 药品,药剂师可能会更经常地被咨询药物相互作用及不良反应和作为自我保健用药的局限性。最后,药剂师可以向患者提出建议针对他们的症状应该使用 OTC 药品还是应该去看医生。有关药剂师在自我保健中的作用的课题在以后的章节中会深入讨论。



## 重新分类的问题

消费者考虑的大问题就是他们用于药物治疗的开销。在处方药向 OTC 药品转化过程中,第一个问题是原先由保险公司付费的处方药产品在转为 OTC 药品后就不再属于保险范围内了。这可能会造成消费者的困惑和挫折感。另一些会带来这种感觉的因素是一些双跨品种。在大多数这类产品中,OTC 药品往往是较低的剂量规格。然而,在某些情况下 OTC 药品与其不同剂量强度的处方药相比可用来治疗相同的病症。通常,OTC 药品与处方药相比应短期应用或每天少用几次,然而这些会使患者感到困惑,究竟哪种剂量针对他们的症状才最适合。第二个问题是有关药品安全性的错误认识。绝大多数患者认为 OTC 药品是安全的并且完全没有副作用。这个错觉也许是由于消费者可以无须健康顾问的任何建议就可以自行购买 OTC 药品造成的。这可能导致消费者对一个特定药品的安全性和耐受性产生错误的认识,特别是当它与他们服用的其他药物或其他健康状况相关联时。几乎没有消费者认为会有 OTC 药品对他们的身体造成有害的影响,包括影响血压、血糖或心率。第三个问题是有关制造者发布的误导广告。患者有限的医学知识使他们极易受到此类广告的影响。这些商业性广告影响消费者去购买某个产品,从而使产品在高度竞争的 OTC 产业市场中增加市场份额。最后,执业医师有关重新分类的重要担忧是直接向其咨询的患者的减少。FDA 最近已尝试通过在产品的标签上加上“在使用本品或任何药物前,请咨询医师或药师”的警示语来改变这种状况<sup>[18]</sup>。随着管理式医疗和处方集管理的出现,保险公司对于处方药转 OTC 药品的过程也显示出浓厚的兴趣。2001 年由 wellpoint 健康网络公司提交给 FDA 的申请书例证了这种态度改变。这个标志性的事件开始是由加利福尼亚蓝十字的药师们发起的运动。作为加利福尼亚蓝十字的母公司,wellpoint 健康网络公司向 FDA 请求把 3 种抗组胺处方药品 Claritin、Zyrtec 和 Allegra 转为 OTC 药品。而作为产品的生产商,先灵-保雅、辉瑞和安万特公司均反对进行转变,他们申明由于安全原因,这些药物需要在医生的监控下使用。通常由于药品专利的到期,药品制造者们会设法将药物转为 OTC 药品。但是在这个案例中,他们联合起来是因为这些产品没有准备好转变为 OTC 药品。近 18 年来,FDA 只有一次不是通过制造者的申请或提交材料批准药品作为 OTC 药品销售。在 2001 年 5 月 11 日,FDA 的顾问委员会裁决 Claritin、Zyrtec 和 Allegra 应作为非处方抗过敏药品销售。顾问委员会专题小组指出制造者在自己的广告中申明这些药品的副作用不比安慰剂严重。FDA 认为它同意这个建议,但并没有发表任何裁决。令人惊讶的是,由于看到未来市场的销售增长潜力,先灵-保雅公司决定改变销售策略。它向 FDA 自动提交了转变申请文件,请求把 Claritin 治疗鼻部过敏及荨麻疹方面都转为 OTC 药品进行销售。FDA 向它的顾问们咨询,患者是否可以自行诊断荨麻疹而

非更严重的皮疹,如果可以,Claritin 是否为此提供了合适的 OTC 药品。FDA 的顾问投票认为足够的证据表明 Claritin 在治疗慢性荨麻疹方面患者不必再需要处方,但在急性荨麻疹方面还需要更多的研究。FDA 虽并不受制于顾问们的建议,但在过去一般都会选择听从。显然,在未来我们会看到 Claritin 和更多的产品作为 OTC 药品销售。

## OTC 药品商品名的混乱

OTC 药品转换和制造者的商品名意识给消费者带来的一个重大问题是在命名药品中使用成分的混乱<sup>[33,34]</sup>。由于消费者对商品名的忠诚度,即使药品的处方发生了变化,制造者也保留熟悉的商品名。药品制造者把收入的很大一部分来投入面向大众的商品名认知广告。一个流行的销售策略就是用已经建立的商品名来促进同一产品线里其他产品的销售。这个规则就是众所周知的产品线扩展。这个销售策略可能会造成消费者的困惑,特别是当产品名转到另一个完全新的不同产品线的产品时<sup>[33,34]</sup>。例如,“泰诺”,McNeil 生产的一系列产品,分别用来治疗疼痛、感冒、流感或鼻窦炎。在表 8 可以看到 2000 年在美国上市的以“泰诺”为商品名的产品数目。在另一些例子中,将特定的治疗结果与产品的商品名相联系是不完全正确的。一个由 Kramer 实验室制造的商品名为 Fungi-nail 的溶液,提示它可以治愈甲真菌症。尽管药师们都明白仅通过局部治疗很难获得有效的治疗结果,但消费者可能并没有意识到。由于品牌的忠实度如此重要,以至于制造者通常为产品线内的其他药品保留相同的商品名,即使它们可能并不含有相同的活性成分。以 Unisom 的睡眠产品为例:Unisom 睡眠凝胶剂<sup>®</sup>以盐酸苯海拉明为活性成分,而 Unisom 睡眠片<sup>®</sup>则以琥珀酸多西拉敏为致睡成分。药剂师们需要明确并掌握这些情况,这样他们才可以针对消费者的错误观点进行用药指导。

表 8 产品线扩展可能造成的混乱示例

商品名	成分和剂量
泰诺	扑热息痛 1000mg
泰诺 PM	扑热息痛 1000mg 氢溴酸右美沙芬 50mg
泰诺咳嗽	扑热息痛 1000mg 氢溴酸右美沙芬 30mg
泰诺鼻炎	扑热息痛 1000mg 盐酸伪麻黄碱 60mg
泰诺过敏性鼻炎	扑热息痛 1000mg 盐酸伪麻黄碱 60mg 马来酸氯苯那敏 4mg
泰诺感冒	扑热息痛 650mg 盐酸伪麻黄碱 60mg 氢溴酸右美沙芬 30mg
泰诺综合征状	扑热息痛 650mg 盐酸伪麻黄碱 60mg 氢溴酸右美沙芬 30mg 马来酸氯苯那敏 4mg

## F

## 第三类药品

由于 OTC 药品的混乱以及大量的处方药转为 OTC 药品,许多人呼吁分化出第三类药品。在美国历史上,药品的分类是基于两类别系统:处方药和 OTC 药品。OTC 药品是指 FDA 建立的消费者根据标签的使用说明和警告能够安全有效地直接使用的一类药品。由于缺少医生,甚至某些时候缺少药师的监控,OTC 药品要求有较宽的安全范围。第三类药品只能通过药师获得。第三类药品不能在其他零售点购买到,如折扣商店、无药房的杂货店、旅馆的礼品商店和便利店。目前的两类别分类系统满足了最基本的供需要求。FDA 一再拒绝第三类药品或过渡类别。在 1994 年 3 月 9 日, FDA 声明将 OTC 药品的销售限制在药店中是不合适的,这将大大减少消费者能够购买到 OTC 药品的零售点数量(在全国范围内从 75 万个到 6.5 万个),限制了自由竞争并抬高了部分 OTC 药品的价格,因而不会对大众的健康带来益处。减少竞争还会对在城市中心或乡村传统上接受服务的人群造成不同比例的影响。美国司法部和国家律师协会也反对第三类药品,他们认为这个提议会造成 OTC 药品分布的垄断,因此是反竞争并有损消费者利益的。

尽管对第三类药品的观点仍未明朗,也有一些团体支持这种措施。全国药学会联合会(NABP)在 1995 年通过了一个决议请求对这个问题立法<sup>[35]</sup>。全国社区药师协会(NCPA)则在 1982 年就呼吁建立一个“药师说明类别”,这样可在没有其他任何医疗保健介入的场所销售之前,建立一个“缓冲”期使药师事先获知并销售最新转换的药品<sup>[35,36]</sup>。APhA 也发表意见赞成第三类药品<sup>[37]</sup>。最后,知道 OTC 药品错用现象的药师们支持建立只能在柜台上获得的第三类药品<sup>[36]</sup>。不幸的是,在反对者看来,这只是一个特定利益团体力图以牺牲其他零售者的利益来获得某些药品的销售专有权。然而,随着越来越多的产品转化为 OTC 药品,消费者在进行选择时,可能会发现很难去记住所有产品的信息,特别是药物相互作用。因此,第三类药品的问题还没有解决。

## OTC 药品广告

预计药品公司 1999 年在直接面向消费者的处方药广告上花费近 18 个亿<sup>[38]</sup>。尽管 FDA 有权禁止虚假广告产品的销售,但对非处方药的广告并没有调节和管理权利。这个权利归属联邦商业委员会(FTC)。消费者根据从广告中获取的信息做出产品购买决定。如果这些广告存在误导,消费者的药品知识是不足以察觉的<sup>[39]</sup>。这可能会导致不恰当购买并可能引起不良反应。FTC 法在 1970 年进行了修订,禁止在广告中描述 OTC 药品的治疗效果时使用 FDA 没有批准的内容。处方药广告的强制标准要比 OTC 药品严格得多。一个处方药的广告不仅要指出药品的有效作用还

必须说明其禁忌证和警告。而 OTC 药品广告通常只是提到产品有利作用的信息,很少提及禁忌证或安全信息。FDA 要求广告在药品的安全性和有效性描述中必须符合“合理的平衡”原则,而 FTC 没有这种要求<sup>[40]</sup>。

美国广播业界协会及 NDMA 建立了一条法规,规定了制造者在制作非处方药电视广告时必须遵守的指导原则。根据这项指导方针,制造者必须保证广告中不包含那些不被临床或其他科学证据支持的疗效,也不能暗示产品可用来预防或治疗一种需要执业医师才能诊治的严重病症<sup>[5]</sup>。对于 OTC 药品广告的深入讨论将在本书接下来的章节中展开。

## 特殊危险人群的考虑因素

在美国,部分人口被认为是药物治疗的高危人群,这是由于他们对药物副作用的处置能力不同,有关药物的吸收、分布和代谢的药代动力学参数也不同,或因为年龄不同而药物的作用也不同。这些人群发生药物意外事件的风险很可能高于普通患者。由于 OTC 药品很容易获得,这类事件就特别容易发生。考虑到这些问题, FDA 给出了一个药物与药物相互作用的指示表(表 9)<sup>[41]</sup>。对于儿童、孕妇或哺乳期妇女和老年患者在应用 OTC 药品治疗时应特别注意和监测。

表 9 部分 OTC 药品相互作用警告的摘选<sup>[41]</sup>

药物类别	药物相互作用的信息
减少胃酸 的 H <sub>2</sub> 受体拮抗剂	1. 含有西咪替丁的药品 2. 如有以下情况,使用前应咨询医生或药师: 正在服用茶碱(口服哮喘药物)、华法林(抗凝血药),或苯妥英(癫痫发作药)
抗酸剂	1. 如有以下情况,使用前应咨询医生或药师: 如果药物每天最大剂量中含有超过 5g 的乳糖,而对牛奶或牛奶类制品过敏; 正在使用处方药 2. 如果有肾脏疾病在服用前应咨询医生
止吐剂	1. 如有以下情况,使用前应咨询医生或药师: 正在使用镇静剂或镇定剂 2. 如有以下问题,应咨询医生: 呼吸问题,如肺气肿或慢性气管炎; 青光眼或前列腺肿大所致的排尿困难 3. 在服用这类药品时,应避免服用含酒精的饮料
抗组胺药	1. 如正在服用以下药物,在使用前应咨询医生或药师: 镇静剂或镇定剂; 抗高血压或抗抑郁处方药 2. 如有以下问题,使用前应咨询医生: 青光眼或前列腺肿大所致的排尿困难 呼吸问题,如肺气肿、慢性气管炎或哮喘 3. 在服用这类药品时,酒精、镇静剂或镇定剂可能增加嗜睡感,应避免服用含酒精的饮料

续表

药物类别	药物相互作用的信息
止咳药	1. 如有以下情况, 使用前应咨询医生或药师: 正在使用镇静或镇定剂 2. 如有以下问题, 使用前应咨询医生: 青光眼或前列腺肿大所致的排尿困难
支气管扩张剂	如有以下问题, 使用前应咨询医生: 心脏病、高血压、甲状腺疾病、糖尿病或前列腺肿大所致的排尿困难; 曾因哮喘住院或正在使用治疗哮喘的处方药
轻泻药	如有以下问题, 使用前应咨询医生: 肾脏疾病并且此药品中含有硫酸盐、钾或镁盐; 胃痛、恶心或呕吐
鼻黏膜充血消除剂	如有以下问题, 使用前应咨询医生: 心脏病、高血压、甲状腺疾病、糖尿病或前列腺肿大所致的排尿困难
尼古丁替代品	1. 如有以下问题, 使用前应咨询医生: 未进行药物控制的高血压; 心脏病或近期心脏病发作或心跳不规则, 因为尼古丁可以促进心率加快 2. 如正在使用以下产品, 使用前请咨询医生或药师: 正在服用治疗抑郁或哮喘的处方药; 正在使用非尼古丁的处方药进行戒烟治疗 3. 以下情况不要使用: 如果继续吸烟、嚼烟草、使用鼻烟或使用其他含有尼古丁的产品
夜晚助眠药物	1. 如正在使用以下产品, 使用前应咨询医生或药师: 镇静剂或镇定剂 2. 如有以下问题, 使用前请咨询医生: 呼吸问题, 如肺气肿或慢性气管炎; 青光眼; 前列腺肿大所致的排尿困难 3. 当使用此产品时, 应避免含酒精的饮料
止痛药	如有以下情况, 使用前应咨询医生: 每天喝 3 瓶或更多的含酒精饮料
兴奋药	当使用此产品时, 限量服用含咖啡因的食物、饮料或其他药物。过多的咖啡因会导致紧张、易怒、睡眠减少或偶尔心跳加快。要注意本品的推荐剂量中也含有一杯咖啡的咖啡因量
局部粉刺治疗药品	使用本品或同时在使用其他治疗粉刺的局部药物后可能会出现皮肤变干或刺激性。如果发生这类情况, 除非有医生的指导, 否则只能使用一种药物

虽然在怀孕和哺乳期间, 许多 OTC 药品在医生的监控下可以使用, 但有一些 OTC 药品是不安全的。就如同标签

上所指示的, 怀孕期间、可能怀孕的或正在哺乳的妇女, 在使用 OTC 药品前应向医生咨询<sup>[42,43]</sup>。不鼓励怀孕或哺乳期妇女不经基本保健提供者的咨询就使用 OTC 药品。了解妇女是否处于妊娠期前三个月是非常重要的, 因为某些药品在妊娠的某个期间使用是安全的。在哺乳时, 许多药品可以进入乳汁, 从而给婴儿带来问题。哺乳期需要服用 OTC 药品的母亲们应尽量在喂完奶后或婴儿睡眠期间服用药品。另外, 应尽量避免使用那些在广告中声称是强效、高强度或长效的产品。应建议怀孕和哺乳期妇女尽可能采用非药物治疗方式。

2 岁以下的儿童不经医生同意不应给予 OTC 药品。在家长们给小孩用药前, 应该考虑是否有必要<sup>[44]</sup>。给儿童推荐 OTC 药品的主要问题就是很难获得他们准确的用药史。尽管在大多数时间家长们会提供一个粗略的用药史, 但还是很难提供能准确减轻他们症状的药品。另外, 大多数 OTC 药品, 甚至那些为儿童设计的药品也没有 2 岁以下儿童的剂量信息。有些研究证明在儿童人群中感冒和咳嗽 OTC 药品存在不恰当使用<sup>[45~49]</sup>。这些 OTC 咳嗽和感冒药品与在儿童中出现的一些严重副作用相关<sup>[50~62]</sup>。

另外一个可能存在风险的人群, 也是 OTC 药品的最大消费人群即老年人。只有在进行完整的疾病状态评估后才能对老年人使用 OTC 药品。在为老年人建议使用哪种 OTC 药品时应全面衡量社会、经济和生理学因素。已经存在的医疗条件会影响 OTC 药品的选择和使用。例如, 应避免对那些青光眼、由良性前列腺肥大引起的尿潴留或肺气肿患者使用非处方抗组胺药。许多含拟交感神经作用的减充血剂的感冒止咳 OTC 药品可能会影响高血压或糖尿病患者的血压和血糖。老年人群比社会中的任何其他人群消费更多的药品。正因为如此, 多药治疗或联合给药在选择和使用 OTC 药品时起着重要的作用。许多老年人患有骨关节炎或其他的疼痛或炎症疾病。处方药或 OTC 药品可能同样都含有止痛的成分, 但一些止痛药的副作用会引起胃出血。因此, 对于老年患者来说, 能清楚了解正服用的所有药品和其中的活性成分的名称是很重要的, 这样可以防止他们重复治疗。由于很可能进行合并用药治疗, 这个人群的药物相互作用事件也倾向于高发。对于肾功能和肝功能受损者来说, 药代动力学参数可能会对某些非处方药物的消除和可能毒性造成重要影响。总体来说, 应在推荐非处方药时充分考虑到老年群体的特殊要求和高危险性。

## 其他潜在的药物治疗风险

由于 OTC 药品是非常容易获得的, 人们通常会错误地认为, 它们对于成年人来说就是安全的<sup>[63]</sup>。在本章中, 我们一直强调 OTC 药品无须处方就可以获得, 并不代表在使用时就不需要认真思考和仔细斟酌。当用错人、用错剂量或用错组合时, 它们确实会给原本意图改善的生命造成危害。例如, 在 1998 年阿司匹林就造成了 33 起治疗和意外死亡事件, 近年来的数据可从美国毒品控制中心协会获

## F

得<sup>[64]</sup>。APAP 近年来一直受到肝脏毒性问题的困扰。APAP 是在美国 and 全球范围内都广泛使用的解热镇痛药, 它有超过 100 多种产品。同时, 它也是治疗故意和意外中毒事件的常见药物<sup>[64]</sup>。含 APAP 的 OTC 药品有 325mg 和 500mg 两个剂量规格。它也在许多镇痛处方药中出现, 包括 Darvocet、Percocet 及其他。APAP 成人每天最大剂量为 4g, 儿童为每千克体重 90mg。APAP 的毒性剂量是单次急性服用每千克体重 150mg 或成人约为 7g, 但是在酗酒或其他敏感人群中可能更低。然而, 当服从推荐剂量使用时, 肝脏毒性发生率是极小的<sup>[64]</sup>。消费者能够明白 OTC 药品的最大使用剂量, 并阅读标签以了解应该间隔多久、持续多长时间来服药进行自我治疗以不超量服用药品是很重要的。超量服用是一个应避免的明显错误, 但是即使是正确的剂量, 错误的合并用药仍然会发生问题。信息时代的技术给能与互联网连接的患者提供了相当的便利。在互联网上有很多网站 (www.medbroadcast.com, 具有药品核对选项), 只要用户输入药物的商品名或通用名就可以提供药品的各种信息, 从药物的作用机理到禁忌证。这些网站确实有助于减少错误用药的风险并可以帮助消费者提前了解他们预期的副作用类型。世界范围内与自我药疗产业相关的一些网址见表 5。

## 药师在非处方药治疗中的作用

作为最受信任的职业之一, 药师在患者选择 OTC 药品时施加了很大的影响。研究显示有 52% 的患者在选择 OTC 药品时会咨询药师<sup>[65]</sup>。表 10 中列出了药师推荐最多的各类 OTC 药品。药师作为药物治疗专家, 应该对患者选择 OTC 药品的咨询起重要作用。美国每年要消费 500 亿非处方止痛片, 用于自我治疗如头痛、肌肉痛和关节炎等问题。但有许多消费者不愿费力去阅读标签来防止药物的错用, 他们不了解所用药品的风险和利益, 并且他们中的许多人没有正确阅读标签的能力。消费者可能会请药师推荐或仅凭非处方药的名称来使用。对药品名称的熟悉并不表示他们对药品有充分的了解。在 1998 年由 APhA 委托的 Yankelovich 研究, 调查了消费者对 OTC 药品的态度和购买习惯。结果表明 85% 的成人调查者称他们在疼痛和发烧时使用过一些止痛 OTC 药品, 事实上三分之一的人每周都会用这些药品<sup>[67]</sup>。47% 的成人说他们并不是经常阅读药品标签, 不到 40% 的人向药师咨询这些产品, 超过三分之一的人说他们不太清楚这些药品的风险。此外, 有 85% 的成年调查者表示他们从未听说过包括阿司匹林和布洛芬在内的非甾体类抗炎药物或 NSAIDs。当被问到 NSAID 中任一药物名称时, 更多的人会错误地回答 APAP 而不是阿司匹林。74% 的调查者不知道胃部不适或胃出血与阿司匹林有关, 43% 的人不知道同时服用止痛 OTC 药品和处方药品时会有危险<sup>[67]</sup>。这些统计数据指出了药师在指导和建议 OTC 药疗中发挥的重要作用。如前所述, 消费者可以从许多途径获得药品信息, 如互联网、家庭成员和大众媒体。某些信息

可能很有价值但也有可能是错误的。消费者不一定知道药品可能带来的副作用及其严重性, 也不了解有哪些禁忌证, 这些都可以在患者咨询时指明。一项由 Sclar、Robinson 和 Skaer<sup>[68]</sup>组织的研究表明由药学毕业生提供的药品咨询改变了 42% 消费者的购买决定, 并能为每个顾客平均减少 1.53 美元的 OTC 药品消费。这项研究还证明咨询时间的长度明显影响消费者最终的购买结果。

表 10 美国药师推荐最多的部分 OTC 药品<sup>[66]</sup>

分类	最常推荐的产品	推荐率/%	月推荐次数
镇痛药			
扑热息痛	Tylenol	97	12
阿司匹林	Bayer	80	9
布洛芬	Motrin	78	11
萘洛芬	Orudis KT	86	4
萘普生钠	Aleve	96	6
止咳/感冒/过敏			
成人感冒药	Comtrex	18	14
儿童感冒药	Dimetapp	44	11
成人止咳药	Robitussin DM	47	14
儿童止咳药	Triaminic	28	12
抗过敏药	Chlor-Trimetom	44	13
抗哮喘药	Primatene	82	5
流感药品	Theraflu	51	8
鼻炎药品	Sudafed	45	11
润喉片	Cepacol	20	8
喉咙喷雾剂	Chloraseptic	83	7
胃肠道药物			
抗酸剂	Mylanta	55	7
止泻药	Imodium A-D	94	6
H <sub>2</sub> 受体拮抗剂	Pepcid AC	87	7
痔疮制剂	Preparation H	69	4
刺激剂或刺激 性轻泻药	Dulcolax	59	4
局部皮肤病药			
阴道抗真菌药	Monistat	72	4

药师可以帮助患者了解他们服用的 OTC 药品是否存在药物之间或药物与食物之间的相互影响。完整的药物治疗史包括处方药、OTC 药品及草本补品是药物服务的重要组成部分。通过对用药史进行评估, 药师可以帮助消费者合理地购买和使用 OTC 药品。另外, 药师还有责任向患者的医生、药品制造者和法规机构报告患者遇到的任何与所购买的 OTC 药品有关的药物不良反应。

总之, 药师在帮助患者进行自我药疗的过程中扮演了重要的角色。在必要的情况下, 他们应该帮助消费者选择药品, 评估患者使用 OTC 药品的危险度系数, 劝告消费者正确使用药物, 根据患者的服药情况提供 OTC 药品, 帮助消费者自行监测药物的毒性和有效性, 反对使用假药, 防止消费者延误从其他健康保健专业人员处寻求最佳治疗时机。药师可以运用患者药师互动的介入策略向消费者提供

信息,从销售点替换药物,与当地的其他药师分享信息,并介绍健康保健组织中的其他成员<sup>[69]</sup>。

## 展望

OTC药品的未来明显呈现增长态势。美国人将继续会依赖OTC药品作为他们进行自我保健的最重要方面。处方药向OTC药品转化将继续成为药品产业策略的一部分,用来增加其产品销售和增加消费者。这些持续的变化使保险能否来覆盖OTC药品成为一个显著的问题。绝大多数保险公司目前的处方药品收益计划中都没有覆盖OTC药品,但是随着来自消费者和健康保健提供者的压力日益增加,可能会有所改变。当与管理保健公司交易时,OTC药品,特别是由处方药转变的产品,可能成为患者保健方案的一线治疗药物。通过仿制药品的赔偿问题是保险公司必将面临的一个问题。通过FDA对OTC药品新的标签要求,消费者将对他们想购买的产品有较好的了解。然而,药师在提供这类产品咨询时作用将更加重要。随着更多人使用这些产品,新的产品不断涌现,美国大众使用自我药疗的热情高涨,药师必须将他们的专业知识集中于咨询和向大众提供有关此类产品的信息,如果能恰当使用,将对我们的健康保健支出和治疗满意度带来重大的影响。

## 参考文献

- Top 200 OTC/HBC Brands in 2001. *Drug Topics* 2002, 146 (5), 53—54.
- Self Care in the New Millennium; American Attitudes Toward Maintaining Personal Health and Treatment, Prepared by Roper Starch Worldwide, Inc., for CHPA, 2001.
- Lowell, M. Consumer Trends in Self-Diagnosis, Home Testing and Over the Counter Medication Implications for the Registered Nurse. *Kans. Nurse* 1995, 70 (5), 1—2.
- The Role of Pharmacist in Self-Care and Self-Medication; <http://www.who.int/medicines/library/dap/who-dap-98-13/who-dap-98-13.pdf> (accessed Oct 7, 2002).
- Covington, T. R. Self-Care and Non-prescription Pharmacotherapy. In *Handbook of Non-prescription Drugs*, 12th Ed.; APhA: Washington, D. C., 2000; 3—12.
- Neafsey, P. J.; Strickler, Z.; Shellman, J.; Padula, A. T. Delivering Health Information About Self-Medication to Older Adults: Use of Touchscreen-Equipped Notebook Computers. *J. Gerontol. Nurs.* 2001, 27 (11), 19—27.
- Lowe, N. K.; Ryan-Wenger, N. M. Over the Counter Medications and Self-Care. *Nurse Pract.* 1999, 24 (12), 34—44.
- Barnett, N. L.; Denham, M. J.; Francis, S. A. Over-the-Counter Medicines and the Elderly. *J. R. Coll. Phys. Lond.* 2000, 34 (5), 445—446.
- CHPA. Aging and Health; The Role of Self-Medication, 1998. [http://www.chpa-info.org/publications/Aging\\_and\\_Health.asp](http://www.chpa-info.org/publications/Aging_and_Health.asp) (accessed Nov 7, 2002).
- OTC Facts and Figures; [http://www.chpa-info.org/statistics/OTC\\_Facts\\_and\\_Figures.asp](http://www.chpa-info.org/statistics/OTC_Facts_and_Figures.asp) (accessed Oct 17, 2002).
- OTC Sales by Category; [http://www.chpa-info.org/statistics/OTC\\_Sales\\_by\\_Category.asp](http://www.chpa-info.org/statistics/OTC_Sales_by_Category.asp) (accessed Oct 31, 2002).
- ACNielsen Begins Tracking OTC Remedy Sales in Convenience Stores; <http://acnielsen.com/news/american/us/2002/20021007.htm> (accessed Nov 7, 2002).
- National Health Expenditures; <http://healthchec.org/hottopics/nhe/home.html> (accessed Nov 7, 2002).
- McFee, R. B.; Mofenson, H. C.; Caraccio, T. R. Dextromethorphan: Another Ecstasy? *Arch. Fam. Med.* 2000, 9, 123.
- OASAS. Over the Counter Danger; <http://www.oasas.state.ny.us/AdMed/otc.htm> (accessed Oct 27, 2002).
- Hughes, G. F.; McElnay, J. C.; Hughes, C. M.; McKenna, P. Pharm Abuse/Misuse of Non-prescription Drugs. *Pharm. World Sci.* 1999, 21 (6), 251—255.
- Blank, C. Is This the Right Time for a Third Class of Drugs? *Drug Topics* 1997, 141 (11), 106.
- Over-the-Counter Human Drugs; Labeling Requirements. *Fed. Regist.* 1999, 64 (51), 13254—13303.
- Non-prescription Drug Manufacturers Association; Label Readability Guidelines; NMDA; Washington, D. C., 1991; 20036.
- Sansgiry, S.; Cady, P.; Patil, S. Readability of Over-the-Counter Medication Labels. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1997, NS37, 522—528.
- FDA. Better Medical Product Information, Status Report August 2000, OTC Labeling; <http://www.fda.gov/ope/nprstat98/infostat.htm> (accessed May 28, 2002).
- FDA. OTC Labeling; Questions and Answers; <http://www.fda.gov/cder/otc/label/quesanswers.htm> (accessed Mar 4, 2002).
- The New Drug Facts Label; <http://www.bemedwise.org/label/label.htm> (accessed Oct 17, 2002).
- Gilbertson, W. E. FDA's Review of OTC Drugs. In *Handbook of Nonprescription Drugs*, 10th Ed.; Covington, T. R., Lawson, L. C., Eds.; APhA: Washington, D. C., 1993; 21—37.
- Botstein, P. Criteria for Switching New Molecular Entities from Prescription to Over-the-Counter. *Drug Inf. J.* 1990, 24, 29—31.

26. Juhl, R. P. Prescription to Over-the-Counter Switch; A Regulatory Perspective. *Clin. Ther.* 1998, 20, C111-C117.
27. From Rx-to-OTC; The Switch Process, CHPA; [http://www.chpa-info.org/issues/Switch\\_Process.asp](http://www.chpa-info.org/issues/Switch_Process.asp) (accessed Oct 29, 2002).
28. Brass, E. P. Changing the Status of Drugs from Prescription to Over-the-Counter Availability. *N. Engl. J. Med.* 2001, 345 (11), 810-816.
29. Juhl, R. Switching Drug Products from Rx to OTC Status a Benefit to Pharmacy Practice. *US Pharm.* 2000, 25 (4), 119-128.
30. Whitney, D. W. Product Liability Issues for the Expanding OTC Drug Category. *Food Drug Law J.* 1993, 48 (3), 321-350.
31. Soller, R. W. Evolution of Self Care with Over the Counter Medications. *Clin. Ther.* 1998, Suppl. C, C134-C140.
32. Bachrach, E. E. The FDA's New Over the Counter Drug Office and Advisory Committee; An Industry Perspective. *Food Drug Law J.* 1993, 48, 563-566.
33. Gannon, K. Are All in the Family OTC Brands Misleading? *Drug Topics* 1992, 136 (18), 50-52.
34. Pray, S. S. Confusion in the Market Place. *US Pharm.* 1995, 20 (1), 16-18.
35. Ukens, C. Class Act-NABP Backs Third Class of Drugs. *Drug Topics* 1995, 139 (10), 13.
36. Gannon, K. Rx to OTC Switches Raise New Call for Third Class. *Drug Topics* 1989, 133 (20), 48.
37. Marshall, R. P. A Transition Category of Drugs; Win-Win-Win? *Am. Pharm.* 1992, NS32 (1), 64-67.
38. Woloshin, S.; Schwartz, L. M.; Tremmel, J.; Welch, H. G. Direct-to-Consumer Advertisements for Prescription Drugs; What Are Americans Being Sold? *Lancet* 2001, 358 (9288), 1141-1146.
39. Sansgiry, S.; Sharp, W. T.; Sansgiry, S. S. Accuracy of Information on Printed Over the Counter Drug Advertisements. *Health Mark Q* 1999, 17 (2), 7-18.
40. Sheftell, F.; Dodick, D.; Cady, R. Direct-to-Consumer Advertising of OTC Agents Under Current FTC Regulations; Concerns and Comment. *Headache* 2001, 41 (6), 534-536.
41. CDER. Drug Interactions You Should Know; <http://www.fda.gov/cder/consumerinfo/druginteractions.htm> (accessed Nov 7, 2002).
42. Mercill, A. W. Non-prescription Drugs. In *Principles of Pharmaceutical Marketing*, 3rd Ed.; Smith, M. C., Ed.; Lea and Febiger, Philadelphia, 1983; 206-227.
43. American Academy of Pediatrics Committee on Drugs. Transfer of Drugs and Other Chemicals into Human Milk. *Pediatrics* 1994, 93, 137-150.
44. Williams, R. How to Give Medicines to Children. *FDA Consumer* 1996, 30 (1), 6-9.
45. Smith, M. B.; Feldman, W. Over the Counter Cold Medications; A Critical Review of Clinical Trials Between 1950 and 1991. *J. Am. Med. Assoc.* 1993, 269, 2258-2263.
46. Taylor, J. A.; Novack, A. H.; Almquist, J. R.; Rogers, J. E. Efficacy of Cough Suppressants in Children. *J. Pediatr.* 1993, 122, 799-802.
47. Hutton, N.; Wilson, M. H.; Mellits, D. Effectiveness of an Antihistamine-Decongestant Combination for Young Children with the Common Cold; A Randomized, Controlled Trial. *J. Pediatr.* 1991, 118, 125-130.
48. Clemens, C. J.; Taylor, J. A.; Almquist, J. R.; Quinn, H. C.; Mehta, A.; Naylor, G. S. Is an Antihistamine-Decongestant Combination Effective in Temporarily Relieving Symptoms of the Common Cold in Pre school Children? *J. Pediatr.* 1997, 130, 463-466.
49. American Academy of Pediatrics. Committee on Drug Use of Codeine and Dextromethorphan Containing Cough Remedies in Children. *Pediatrics* 1997, 99, 918-920.
50. Kernan, W. N.; Viscoli, C. M.; Brass, L. M. Phenylpropanolamine and the Risk of Hemorrhagic Stroke. *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 1826-1832.
51. Burton, B. T.; Rice, M.; Shmertzler, L. E. Atrioventricular Block Following Overdose of Decongestant Cold Medication. *J. Emerg. Med.* 1985, 2, 415-419.
52. Cetaruk, E. W.; Aaron, C. K. Hazards of Non prescription Medications. *Emerg. Med. Clin. N. Am.* 1994, 12, 483-510.
53. Lake, C. R.; Gallant, S.; Masson, E.; Miller, P. Adverse Drug Effect Attributed to Phenylpropanolamine; A Review of 142 Case Reports. *Am. J. Med.* 1990, 89, 195-208.
54. Pentel, P. Toxicity of Over-the-Counter Stimulants. *J. Am. Med. Assoc.* 1984, 252, 1898-1903.
55. Glick, R.; Hoying, J.; Cerullo, L.; Perlman, S. Phenylpropanolamine; An Over the Counter Drug Causing Central Nervous System Vasculitis and Intra cerebral Hemorrhage. Case Reports and Review. *Neurosurgery* 1987, 20, 969-974.
56. Kase, C. S.; Foster, T. E.; Reed, J. E.; Spartz, E. L.; Girgis, G. N. Intracerebral Hemorrhage and Phenylpropanolamine Use. *Neurology* 1987, 37, 399-404.
57. Myer, P.; Bryant, B.; Cartwright, G. W. Overdose with a Combination Decongestant, Antihistamine and

- Antitussive Syrup. *Indiana Med.* 1985, 78, 766—768.
58. Conway, E. E.; Walsh, C. A.; Palomba, A. L. Supraventricular Tachycardia Following the Administration of Phenylpropanolamine in an Infant. *Pediatr. Emerg. Care* 1989, 5, 173—174.
  59. Weesner, K. M.; Denison, M.; Roberts, R. J. Cardiac Arrhythmias in an Adolescent Following Ingestion of an Over-the-Counter Stimulant. *Clin. Pediatr.* 1982, 21, 700—701.
  60. Pender, S. E.; Parks, B. R. Toxicity with Dextromethorphan Containing Preparation: A Literature Review and Report of Two Additional Cases. *Pediatr. Emerg. Care* 1991, 7, 163—165.
  61. Gardin, J. M.; Shumacher, D.; Constantine, G.; Davis, K. D.; Leung, C.; Reid, C. L. Vulvular Abnormalities and Cardiovascular Status Following Exposure to Dexfenfluramine or Phenteramine/Fenfluramine. *J. Am. Med. Assoc.* 2000, 283, 1703—1709.
  62. Rostagno, C.; Caciolli, S.; Felici, M.; Gori, F.; Neri Sernieri, G. G. Dilated Cardiomyopathy Associated with Chronic Consumption of Phenidmetrazine. *Am. Heart J.* 1996, 131, 407—409.
  63. Kacew, S. Effect of Over the Counter Drugs on the Unborn Child: What Is Known and How Should This Influence Prescribing? *Pediatr. Drugs* 1999, 1 (2), 75—80.
  64. Susan, E.; Farrell, M. D. Program Director, Instructor, Department of Emergency Medicine, Harvard Medical School, Beth Israel Deaconess Medical Center, <http://www.emedicine.com/emerg/topic819.html> (accessed Oct 31, 2002).
  65. Alkhawajah, A. M.; Eferakeya, A. E. The Role of Pharmacists in Patients' Education on Medication. *Public Health* 1992, 106 (3), 231—237.
  66. Fleming, H. OTCs Pharmacists Recommend Most. *Drug Topics* 2000, 144 (14), 24—32.
  67. Levy, S. APhA, McNeil, R. Ph. s Join Forces to Educate Consumers. *Drug Topics* 1998, 142 (22), 48.
  68. Sclar DA, Robinson LM, Skaer TL. Pharmacy Consultation and Over the Counter Medication Purchasing Outcomes. Over the Counter Medication Intervention Project Team. *J. Clin. Pharm. Ther.* 1996, 21 (3), 177—184.
  69. MacFadyen, L.; Eadie, D.; McGowan, T. J. Community Pharmacists' Experience of Over-the-Counter Medicine Misuse in Scotland. *R. Soc. Health* 2001, 121 (3), 185—192.

(周 洁 译)

# 非环糊精类药物复合物技术

Galina N. Kalinkova

Medical University, Sofia, Bulgaria

## 引言

复合工艺,也称为复合,是基于人们认识到不少熟知的药物与其他物质作用后能改变其原药特性的一种工艺。长期以来,制药技术和制药工业对药物复合物的研究与开发都给予了高度重视。药物复合物工艺为改进现存药物提供了可能,如减少毒副作用、提高疗效、增加溶解度等。这些药物复合物可通过药物-金属离子、药物-药物以及药物-辅料等相互作用形成,从而得到优化的药物性质。

当今制药技术中两项最为重大的进步体现在药物复合技术领域,那就是螯合物治疗技术和生物技术。螯合物治疗技术的重要性在解决日益严峻的环境污染问题方面得以彰显,而生物技术与制药业的关系则体现在它可使蛋白质、抗体、多肽等成为一类新型的特殊药物,此外还有胰岛素、干扰素、生长因子和敏感的诊断试剂用于一些疾病,如肝炎、艾滋病、疱疹等。

值得一提的是,以金属离子及其复合物作为医疗手段的历史可以追溯到几千年以前。早在公元前 2500 年,中国人就已把“金”用于医疗;约 500 年前,“金化合物”被认为是治疗麻风病的有效药物。

## 配位理论和部分近代理论探讨

配位理论是由瑞士化学家 Alfred Werner (1866~1919) 于 1891 年提出的,他于 1893 年在苏黎世成为教授,并于 1913 年因配合物研究获得了诺贝尔化学奖<sup>[1]</sup>。Werner 发现,许多具有不对称分子的无机化合物在溶液中同样具有光学活性。这些配合物包括钴、铬和铁。

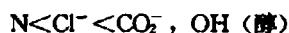
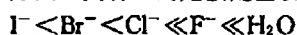
斯塔的纳维亚的科学家 K. Blomstrand 和 S. Jorgensen (1837~1914) 的研究对配合物化学的发展同样起到了推动作用。

美国加利福尼亚大学的 Gilbert Newton (1875~1946 年) 的主要学术贡献是提出了价电子理论,他还开展了有机化合物的吸收光谱研究。

配合物中的原子被称为中心原子或中心离子。为强调中心离子与其自由态离子间的区别,规定在中心离子的元素符号后加一括弧,内用罗马数字标明其价数。直接与中心原子连接的分子和离子则被称为配基,如氨、氨、水等,也可称为球内取代基,如配基或附加物等<sup>[2~4]</sup>。


















配基可以是“硬”的也可以是“软”的<sup>[5]</sup>。前者通常是通过静电相互作用产生负电、电子密度低离域作用、并与阳离子生成共价键所形成的。它们包括氟离子和水分子。

“软”配基可被极化,也可形成共价键,如含氯化物、溴化物、碘化物和硫化物的配体以及咪唑等。这是一种传统的区分方法,更合理的是按配基硬度的增大排序:










需要注意的是,配合物离子均具有特定的立体结构。最常见的配位数为 6 的药物复合物是一种八面体结构,其配基均指向八面体的端点(表 1)。配位数为 4 的药物复合物则构成四面体或平面结构(表 1)。

表 1 药物结构

金属离子	配位数	多面体类型	示意图
铜 (I)	4	四面体	
	(2)	(链形)	
	(3)	(三角形)	
铜 (II)	4	正方形	
	6	变形八面体	
	(4)	(变形四面体)	
	(5)	(正方形底锥体或三角双锥体)	
镍 (II)	4	正方形	
	4	四面体	
	6	八面体	
	(5)	(三角双锥体)	
钴 (II)	4	四面体	
	(4)	(正方形)	
	(5)	(三角双锥体)	
钴 (III)	6	八面体	
	(4)	(四面体)	
	(5)	(正方形底锥体)	



金属离子	配位数	多面体类型	续表 示意图
铁(Ⅱ)	6	八面体	
	(4)	(四面体)	
铁(Ⅲ)	6	八面体	
	(4)	(四面体)	
锰(Ⅱ)	6	八面体	
	(4)	(四面体)	
	(4)	(正方形)	

注：第二列中带括弧的数字表示非正常状态。

上述配合物的立体结构解释了早期关于钴、铂等金属配合物的同分异构现象，同时也可用于预测金属螯合物的几何异构体的个数。例如，金属螯合物 Mea2b2 存在两种几何异构体（顺式和反式），随着金属螯合物中组成成分的增加，其几何异构体的数目也相应增加（图1）。

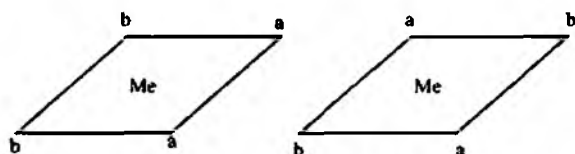


图1 顺式和反式异构体的立体异构

结合对称学知识研究八面体模型，可用于预测具有明确组成和结构的配合物中镜像异构现象。这是 Werner 于 1911 年发现的，该发现也是对配位理论的验证<sup>[2,3]</sup>。

第一个立体异构的想法是基于纯化学方法，取代反应中异构体的数目通过进行比较加以确定，这些模型通过 X 射线衍射分析可以加以证实。

## 药物-金属离子复合物

硫唑嘌呤是一种免疫抑制剂和细胞稳定药，可与多种金属离子形成复合物<sup>[8]</sup>。该复合物可用电位滴定法、红外光谱法等鉴定。研究表明，硫唑嘌呤能与 Co(Ⅱ)、Cu(Ⅱ)和 Ni(Ⅱ)以 2:1 的比例形成复合物。其复合物的稳定性依次为 Cu(Ⅱ) > Ni(Ⅱ) > Co(Ⅱ)。经红外光谱鉴定，硫唑嘌呤-金属复合物生成的证据是 3191 cm<sup>-1</sup> 峰的消失（硫唑嘌呤中嘌呤官能团 N-H 的特征峰），表明在金属复合物的形成过程中有氨基参与。1949 年发现了嘌呤类衍生物具有抗癌作用。这种细胞稳定药物在体内会经生物转化生成 6-硫基嘌呤<sup>[6]</sup>。

药物相互作用是药物治疗中存在的主要问题。尤其是当金属治疗剂同能与之形成复合物的药物同时服用的时候即会发生这种情况<sup>[7]</sup>。目前在药物制剂中已有应用或被药典收录的金属复合物有三硅酸镁、氢氧化铝、硫酸亚铁、碳酸钙、碳酸氢钠和枸橼酸钾。氟哌酸（一种具有抗菌作用的 4-噻诺酮羧酸类化合物）被发现有能很强的能与含有 Fe<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 和 Al<sup>3+</sup> 的化合物发生相互作用的特点，其产生的复合物难以吸收，并且（或者）没有抗菌作用。这种复合物的形成是药物治疗过程中因为同时服用了金属治疗剂而使药物作用发生改变的重要原因<sup>[7]</sup>。

铂(Ⅱ)类化合物（邻苯二胺取代物的衍生物）具有抗肿瘤作用，可抗 P388 型白血病。其抗肿瘤作用受许多因素的影响，包括：螯合环的形成及其强度、不同取代基的性质以及铂(Ⅱ)复合物的相对稳定性<sup>[8]</sup>。

铜离子(Ⅱ)与青霉素类药物（如青霉素 G、青霉素 V、氨苄青霉素、阿莫西林等）的复合物已被合成，按化学计量法分别形成 CuL<sup>+</sup>、CuL<sub>2</sub><sup>+</sup>、CuL<sub>3</sub><sup>+</sup> 类复合物，其中 L<sup>+</sup> 代表青霉素噻唑酸。经红外光谱研究表明，其是通过羧基以单原子二齿配位体的形式与铜离子形成配合物的（图2）。

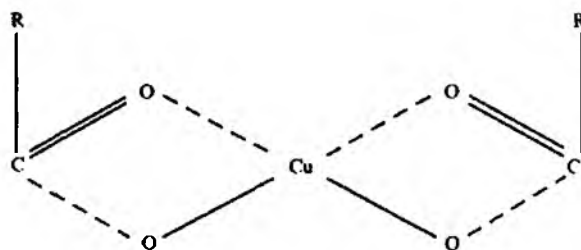


图2 青霉素类药物与铜离子(Ⅱ)形成的复合物

青霉素-铜离子(Ⅱ)配合物的形成可促使青霉素类药物水解成青霉素噻唑酸。当同属于内酰胺类抗生素的头孢唑啉的羧基与铜离子(Ⅱ)形成配合物后，也出现了同样的情况<sup>[9]</sup>。

这些研究进展还被应用于肿瘤的放射治疗<sup>[10]</sup>。当铜离子与席夫碱（源于不同的氨基酸或水杨醛）形成复合物后可获得与超氧化物歧化酶相似的作用。复合物的活性取决于其结构。其螯合环结构的改变对清除放疗过程产生的自由基的效果有关。该复合物具有一种正方形底锥体五元环结构，类似于以铜超氧化物歧化酶为活性中心的多面体配合物。这类可作为放射防护剂的复合物在肿瘤放疗中发挥着重要作用，它可保护正常组织和细胞免受放射性的伤害<sup>[10]</sup>。

第一个天然金属配合物是维生素 B<sub>12</sub>，它是同时由美国人 K. Fokers 和英国人 Lester Smith 从肝脏中提取分离出来的，其结构由 Todd 于 1955 年确定。金属钴(Ⅲ)是该复合物的中心离子，其配位数为 6，与 4 个吡咯环相连。维生素 B<sub>12</sub> 可用于治疗恶性贫血。

## F

## 药物-辅料复合物

纳曲酮是一种有效的麻醉拮抗剂<sup>[11]</sup>，其作用是烯丙吗啡的 30~40 倍及盐酸纳洛酮的 2~3 倍。研究发现，纳曲酮和 Eudragit® 之间可通过氢键作用形成复合物，该复合物的结构可通过高效液相色谱法、紫外分光光度法、扫描电镜法、<sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C 核磁共振法、差示扫描量热法以及高温载台显微镜法确定。溶出度试验表明，其具有高效缓释效果<sup>[11]</sup>。

Eudragit® L<sup>[12]</sup> 是一类由甲基丙烯酸及其甲酯以 1:1 比例组成的、相对分子质量约为 135 000 的阴离子聚合物，在药物制剂中应用广泛。它可与喹酮心安形成复合物，复合物的性质可通过红外光谱法以及 <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C 核磁共振法加以确定。结果表明，该复合物是通过聚合物与药物的分子间作用形成的，并且药物是与铵离子间发生相互作用（复合物中喹酮心安盐的最大含量约为 22%）。喹酮心安与吗啡复合物的比较试验显示两者存在差别。这些差异主要源于两种药物中与氨基有关的化学结构的不同<sup>[12]</sup>。

辅料乙基纤维素<sup>[13]</sup>和果胶<sup>[14]</sup>也具有通过分子间氢键作用与药物形成复合物的可能性。后者就曾与阿莫西林三水合物（颗粒）和制霉素（片）分别形成了复合物，结果疗效得到了提高。这些复合物的特征及其相互作用可通过红外光谱和 X 射线衍射法确定<sup>[13,14]</sup>。

吡啶美辛是自 1963 年起开始应用于临床的，其消炎作用显著优于氨基比林和氢化可的松，解热作用也显著强于氨基比林。关于吡啶美辛复合物性质的研究也有很多。该药可与多种物质作用，如锌<sup>[15]</sup>、甘油磷酸钙（CGP）<sup>[16]</sup>、聚卡波菲<sup>[17]</sup>、壳聚糖<sup>[18]</sup>、2-（N,N-二甲氨基）丙酸盐<sup>[19]</sup>以及甲啶啉啉<sup>[20]</sup>等。与游离药物相比，吡啶美辛复合物具有更好的特性，如水溶性、溶出和吸收速率以及生物利用度等都得到了提高，而胃肠道溃疡及出血等副作用则有所减轻。锌-吡啶美辛复合物的部分理化性质如下：熔点 232℃（分解），红外光谱特征峰 1586 cm<sup>-1</sup>（羧基的不对称伸缩），配基和锌的比为 2:1，还带有两分子结晶水<sup>[15]</sup>。

关于吡啶美辛复合物的制备方法及其优点有详细描述，包括：①锌-吡啶美辛复合物<sup>[15]</sup>：经济且耗时少；②吡啶美辛-CGP：简单、便于设计、工业化大生产成本低<sup>[16]</sup>；③制备栓剂时聚卡波菲的浓度是关键<sup>[17]</sup>；④吡啶美辛-甲啶啉啉复合物<sup>[20]</sup>：一种新型球状结晶技术，无须制粒过程。

普萘洛尔-甲基丙烯酸共聚物复合物可用于延长药物的释放<sup>[21]</sup>。在复合物中普萘洛尔的含量占到 68%。复合物的形成机理为普萘洛尔与聚合物之间很强的正相互作用（整个过程就是特殊的离子-离子间相互作用以及疏水作用）。普萘洛尔能从复合物中缓慢释放可能是片剂与溶出介质接触时产生的亲水凝胶层所致。通过差热分析法、红外以及紫外分光光度法等技术对该复合物的理化性质进行了研究。

壳聚糖是一类阳离子聚合物，常被用于控制药物的释

放。当它与阴离子聚合物相遇时可形成多离子复合物。为了使其能应用于药物制剂，对此类多离子复合物及其理化性质进行了研究<sup>[22]</sup>。该复合物（如壳聚糖-海藻酸钠、壳聚糖-丙烯酸钠等）的特性主要取决于聚合物链的刚性或弹性程度。前者对 pH 改变较稳定，后者则较易受 pH 的影响，正是这些特性使其能够更精确地设计药物的控释制剂。傅里叶转换红外光谱仪、元素分析及黏度测定法等均可用于上述复合物性质的确定<sup>[22]</sup>。

近来，有研究表明酚噻嗪衍生物的镇定作用与其分子的柔顺性相关<sup>[23]</sup>。它们可通过电荷跃迁形成复合物。这些复合物是由酚噻嗪与右旋糖酐和凝集素之间相互作用而形成的。红外光谱法、X 射线衍射法、紫外分光光度法以及 Dreiding 分子模型法（一种三维模型）在这类复合物的鉴定中均有应用。紫外光谱中可出现淡色效应（即谱带强度的变化）。形成复合物的多少与右旋糖酐的浓度相关。

## 药物间相互作用形成的复合物

利用球晶造粒技术合成了一种新型 Ind 和 Epiroazole 复合物（两者比为 2:1），该复合物的结构可通过红外光谱和 X 射线衍射法鉴定<sup>[20]</sup>。

## 分析

要全面了解药物复合物的特性需借助于多种分析手段，如物理化学的、生物学的等等<sup>[25]</sup>。如何选用这些方法取决于它们是否能有效地帮助确定复合物的类型和形成机制。如今，药物复合物的市场化及其经济、便利的特点<sup>[26,27]</sup>（包括其制备、分析和生产）为制药技术和制药工业，提供了一种新的策略和平衡。本章节中介绍的方法主要是红外光谱和 X 射线衍射法的联合应用<sup>[28]</sup>。

脂肪胺与羧酸类化合物反应生成的复合物具有一个离子对的结构，且复合物的化学组成为 1:1<sup>[23]</sup>。其红外图谱的特征为在 1780~1700 cm<sup>-1</sup> 缺失了游离羧基（ν<sub>C=O</sub>）的伸缩振动峰，而在 1680~1560 cm<sup>-1</sup>（ν<sub>asCOO<sup>-</sup></sub>）和 1400~1300 cm<sup>-1</sup>（ν<sub>sCOO<sup>-</sup></sub>）间分别出现了羧酸根离子的振动峰。同时还会产生一些别的峰：如类似固体盐中在 2800~2200 cm<sup>-1</sup> 的 NH<sup>+</sup> OH<sup>-</sup> 振动吸收峰、1620~1600 cm<sup>-1</sup> 的 NH<sub>2</sub><sup>+</sup> 或 NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 变形振动吸收峰以及 670 cm<sup>-1</sup> 的 CO<sub>2</sub> 的变形振动吸收峰。如果反应体系中加入第二种酸则可以形成组成为 2:1 的复合物（提高胺浓度）。此时，复合物中的羧基阴离子的特征吸收峰则向更低的波数迁移<sup>[23]</sup>。

### 1. 电子顺磁共振技术

电子顺磁共振技术（EPR）可以通过分析复合物中键和配基的特征为含有铜离子和铁离子的药物或蛋白质类物质提供基本信息。但游离的有机基也会有特征 EPR 信号，这将会使得对图谱的解读变得异常复杂<sup>[29]</sup>。

## 2. 电子光谱 (可见-紫外光谱)

通常,当配体与金属离子或配位原子之间发生电荷转移时就会在可见-紫外光区出现强的吸收峰。峰的位置取决于金属和配基的结合状态以及其氧化-还原的能力<sup>[23]</sup>。

## 3. <sup>1</sup>H 核磁共振技术 (NMR)

核磁共振技术在构象分析中有较好应用,如结构化学。这一技术可用于判断金属在复合物中的作用以及金属复合物的性质。

## 4. 络合法

络合法是一种可定量分析(滴定法)含有铋、钙、镁、铅、锌等金属的药物的分析方法。滴定是在聚氨基酸及其盐以及配位酮(分别是 I、II 和 III 或 Trilon B)的溶液中进行的。它们可与药物形成化学计量为 1:1 的水溶性络合物。滴定时必须加入金属指示剂如铬黑 T、紫脲酸胺或二甲酚橙等。金属指示剂的选用原则包括其与金属或药物的可逆反应、不稳定络合物的形成及其在游离和络合状态下颜色的差异<sup>[2]</sup>。因此,络合滴定法主要是基于药物形成络合物能力而采取的一种分析手段。

# 螯合物疗法:人体内的复合物技术

对于金属中毒的治疗常常就需要用到药用螯合剂,它们可与金属形成稳定无毒的复合物并迅速被排出体外。

## 1. 药用螯合剂的选用标准

确定螯合物治疗方案前需要对药用螯合剂做比较评价。为特定金属选择螯合剂时须考虑如下因素:①能在机体内与金属稳定结合;②有较高的选择性;③无毒性。

特定金属的药用配基的选择性可通过测定其形成常数确定。如果选择性较低或缺乏选择性,就可能出现螯合剂与其他金属(如钙和锌)发生结合而产生不良反应。药用螯合剂应能与重金属发生作用。在机体内,金属通常处在亲脂性介质中,如果配基是亲脂性的,则形成的复合物也具有亲脂性,并且不会产生毒性作用。因此,当配基具有较合适的亲脂性时,它就可以穿过金属所在处的生物膜而与之形成脂溶性复合物<sup>[29]</sup>。下面介绍一些药用金属螯合剂。

### 1.1 二巯丙醇 (Dimercaprol, BAL)

这个药始用于第一次世界大战期间,用以治疗战争中的砷(CIHC=CHAsCl<sub>2</sub>)中毒,因为后者分子中的砷能与 BAL 中的巯基相结合。

BAL 可与砷形成稳定的键,并把砷从化合物中清除。BAL 也可用于治疗其他金属中毒,如汞、钙、金、钛、铊和铋。BAL 可与多种金属形成牢固的键,因此必须使用低浓度。使用 BAL 时还需特别注意,在汞中毒初期其与汞形

成的有机复合物在脑中的浓度会提高<sup>[30]</sup>。

### 1.2 EDTA<sup>[30]</sup>

这一药物的解毒机理是将其分子中的钙置换成其他重金属离子,因为这些重金属离子都是很疏松地结合于组织中,从而很容易被解离下来。

这些金属与 EDTA 可形成稳定的水溶性复合物并可迅速从尿中排出。EDTA 可用于铅、镉、钴、汞、铀、铀和铯的急性或慢性中毒。

### 1.3 青霉胺

青霉胺主要用于治疗慢性铜蓄积(Wilson's 病)。

X 射线衍射法可以帮助了解该复合物的结构。其中心原子是被 8 个有硫供体的单价铜包围的卤素。二价铜可与青霉胺的氨基形成配位球体<sup>[29]</sup>。

### 1.4 抗肿瘤药

抗肿瘤药及其金属复合物有顺、反式异构体。二氯二氨铂(II)和四氯二氨铂(IV)的顺式异构体均是非常有效的复合物,尤其是前者在卵巢癌和睾丸癌的治疗中有广泛应用。反式异构体有毒性但无抗肿瘤活性。

所有抗肿瘤药(顺铂也不例外)都有毒副作用,如恶心、呕吐、白细胞降低、肾功能损伤等。肾功能损伤是治疗期间患者机体不能耐受较高的药物浓度所致。

因此确定最低体内有效浓度对于疗效的发挥就是至关重要的。一些常用方法有:将体内铂复合物中的四价铂还原、使聚合物铂复合物解离、减缓阻断惰性配基的排空等。其他的铂复合物也进行过研究<sup>[29]</sup>。

圆二色谱法在鉴定二价铂与核苷、核苷酸、DNA 等的相互作用方面有较多应用。许多抗生素都是很好的配基。有些抗生素的作用机理正是基于其与金属离子的结合作用。例如,四环素与钙离子结合可提高其药效。该复合物的脂溶性非常高,因此更容易透过细胞膜。反之,当细胞内存在有毒金属离子时,也可以抗生素为载体将其带出细胞。

利尿剂的作用是加快尿液的形成,它们通常是正丙醇汞衍生物——RCH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>HgX。其中,R 为极性亲水基。汞利尿剂为酵素抑制剂,其还能抑制三磷酸腺苷(ATP)。这些特性使其在治疗细菌感染方面有广泛应用,其主要作用机理是能与细菌蛋白的巯基发生相互作用。

## 2. 药物制剂与体内金属离子的作用

许多药物制剂可与金属离子发生作用,因此可用作金属螯合剂。有些情况下,其治疗作用是通过将金属离子络合而达到抑制效果。例如,双硫仑可用于治疗慢性酒精中毒,它可抑制醛基氧化酶,从而使乙醇代谢终止于乙醛形成阶段(乙醛的产生会使人感觉不舒服),于是就可阻止乙醇的转运。药物与金属离子形成的复合物若为中性亲油颗

粒, 则其可穿过细胞膜, 在这种情况下, 金属离子便充当了药物制剂的载体<sup>[29]</sup>。

可与金属离子发生作用的药物制剂有乙酰唑胺、苯丙胺、阿司匹林、乙醇丁醇、非那西丁、尼亚拉胺、双硫仑和氨硫脲等。药物的评价内容包括以下重要因素: ①药物的作用强度及其作用机制; ②药物及其代谢物的副作用; ③体内稳定性; ④与其他药物间可能存在的相互作用。

认真考虑上述要求是非常重要的。同时使用的两种或两种以上药物间如果会发生相互作用, 可使其临床应用变得十分危险, 或者改变其治疗作用(可能提高, 也可能降低)。只有非离子性药物是油溶性的。有时药物本身是没有活性的, 发挥生物活性的为其体内代谢产物。药物的特性既与其自身的分子相关, 也与其受体有关。体内药物的离子化程度可通过测定其在体液中的 pK<sub>a</sub> 或 pH 获得。磺胺类抗感染药物在有氨基存在时其药效会提高, 因为后者可以阻止细菌的增殖。金属复合物在抗微生物感染方面的应用, 尤其是对于解决传统抗生素的耐药性问题非常重要<sup>[29]</sup>。复合物中电荷形式及其分布对于其药理活性的影响较大。

### 3. 金属药物

金属锂用于治疗双相性精神障碍(躁狂抑郁症)已有近 50 年的历史。超过 2000 位英国患者曾使用锂治疗此病。该疾病的症状是有时忧郁有时狂躁或过度兴奋; 有时, 这种情绪的变化会持续几个星期或一年, 在发病间歇期也会有所好转。在美国得克萨斯州, 有研究表明该病症与服用锂盐的量、饮水量以及增加去公立医院的心理诊所的次数之间有良好的相关性。

1927 年, 化合物金首次被应用于治疗类风湿性关节炎, 直至今日在某些较严重的病例中也仍有应用。

硫代苹果酸盐也曾成功应用于治疗类风湿性关节炎, 在所有治疗案例中约有 50% 被完全治愈或疗效显著, 约 40% 的患者发现有副反应。硫代苹果酸盐同样也有毒并且具有蓄积作用。最低浓度的化合物金可以进入许多细胞并在人体内停留数年<sup>[29]</sup>。

### 4. 复合物和非金属微量元素

许多非金属元素对机体正常功能的发挥也是非常必要的微量元素。一些复合维生素制剂中常常添加一些人体必需的微量元素, 其疗效和副作用均取决于浓度。因此, 维持机体内有适量的微量元素显得极为重要。这些微量元素包括硼、硅、硒、砷、氯、氟和碘。

硼的作用是其硼酸盐能够抑制一些发酵反应。此外, 硼还可引起膜结构的破坏<sup>[29]</sup>。

机体如果缺乏硅则会导致骨骼和相关组织的结构破坏<sup>[29]</sup>。

缺乏硒则会影响维生素 E 的浓度。维生素 E 是一种抗氧化剂, 可以防止膜氧化。硒可以保护生物体免遭汞或镉的毒害。这一微量元素的正常浓度范围是 0.09~0.2 μg/mL<sup>[29]</sup>。

有趣的是, 新西兰人血中的硒浓度仅为 0.068 μg/mL。

氟及其代谢物是防止龋齿的重要物质。氟是羟磷灰石中的一种成分, 它可以促进磷酸钙的沉淀并加速再矿化。为防止龋齿而在饮用水中加入氟的量约为 1 mg/L。高浓度的氟(超过 8mg/kg)可引起氟中毒, 其特征为影响甲状腺功能。长期使用氟还可导致强矿化(使硫酸钙沉淀)、骨变形伴随肥大以及关节石灰化等<sup>[29]</sup>。

碘在维护甲状腺功能方面有很重要作用。它参与一个复杂的生化合成过程并与激素发生相互作用。缺碘的基本特征就是虚弱、怕冷和干燥及皮肤发黄。碘或甲状腺素可治疗上述症状。

## 生物技术

药物作为生物技术的特殊产品在制药工业中扮演着越来越重要的角色。生物技术是随着遗传工程和发酵技术的进步而发展起来的。这些进步产生了大量可用于治疗或诊断的新型药物, 如多肽、蛋白和抗体等。

具有药用前景的物质, 如干扰素、白介素(以及其他淋巴因子)、生长因子、纤溶酶原激活物都用于疾病的诊断, 它们对许多疾病非常敏感, 如肝炎、疱疹和艾滋病等<sup>[31]</sup>。

生物技术起源于 1970 年代的 300 多家小型生物技术公司(通常都是学术机构中的实验室)。如今, 大型美国生物技术公司的名单也已有很大一串了。此外, 英国、法国、德国以及日本等国政府也纷纷花大力气扶持和发展其本国的生物技术。在欧洲有一些大型生物技术公司(如丹麦的 Novo Industri、英国的 Celltech 等), 但大部分(约 75%)生物技术类公司仍在美国。

胰岛素作为一种药物、一种蛋白质和一种激素的性质<sup>[5]</sup>均已被广泛研究, 其复杂的化学结构也已经确定, 即两条多肽链通过两个二硫键连接。胰岛素可表现为单体、二聚体、四聚体或六聚体, 视其周围其他分子的数目不同而异。胰岛素单体易形成二聚体, 在中性并有锌存在的环境中可进一步形成六聚体。胰岛素浓度达  $10^{-5}$  mol/L 时即主要以二聚体形式存在, 这是范德华力作用的结果。胰岛素的复杂化学结构可以解释其参与复合物形成的过程。重原子试剂和胰岛素间可形成不同复合物, 如与 Lantanides 中的阳离子、铅、铈和铀, 后者为二价的  $UO_2$ , 具有线性构型:  $(O=U=O)^{2+}$ 。胰岛素可与不同价的汞反应物形成复合物。T. B. Blundell 是著名的英国科学家, 就是他破解了胰岛素的结构, 他同时还因为致力于蛋白质构建研究而闻名于世。胰岛素的结晶学性质及其复合物结构可通过 X 射线衍射和电镜法进行研究。

钙离子有助血液凝结从而避免组织受伤后出血不止, 其机理包括一个与钙离子相关的多级过程。许多与血液凝结有关的因子均已为人们所熟知, 如维生素 K 是生物合成凝血素 IX、X 和 VII 的重要物质, 维生素 D<sub>3</sub> 的 1, 25-二羟

代谢产物可促进钙离子的重吸收。钙离子在人体内的累积和释放是一个复杂的过程,其间也有维生素 D 的参与。

几乎所有的蛋白质(酵素、氧化-还原蛋白、转运蛋白、激素以及抗体等)都经过 X 射线衍射方法的分析<sup>[5]</sup>。

酵素为催化剂,可在不改变平衡比的情况下加速生化反应的进程。

氧化-还原蛋白与细胞器(如线粒体、叶绿体)、有特殊功能的膜相关,并具有高的氧化还原电位。

转运蛋白(血红素及其四个亚基)的功能确保快速将氧气输送至特定部位。从 1937 年起就开始对其进行 X 射线衍射分析。

激素可调节细胞内的代谢过程。胰岛素的主要作用就

是转运细胞内的葡萄糖并降低血糖水平,而胰高血糖素的作用则是提高血糖水平。这两种激素均由胰腺分泌。

抗体的作用则是在机体内识别入侵的异物。

## 讨论

对于制药工业而言,制备药物复合物并利用其特定的性质具有重要的意义。这些复合物也可能参与到人体的重要生命活动中,如血红素、组织等中的内源性复合物(图 3)。结合了金属的复合物是酵素的重要组成部分,尤其是氧化酵素。

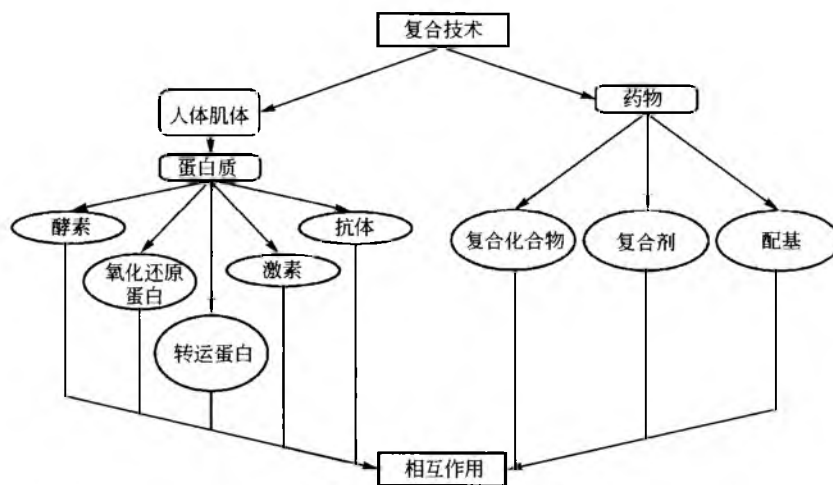


图 3 药物与人体相互作用的过程

对复合技术以及复合物的研究取得了许多重大成果,这一领域涉及广泛,包括抗体-抗原复合物、蛋白酶-抑制剂复合物<sup>[32]</sup>、类脂载药系统、与 DNA 碱基对形成的金属复合物以及在金属配体球中的水溶性配基等<sup>[33]</sup>。经金属修饰的复合物结构取决于金属与碱之间的作用。然而,复合物中水分子对复合物结构的影响作用也是显而易见的,这可以通过结晶学研究加以确定<sup>[33]</sup>。

下一代治疗药物可能就是一种蛋白质与病毒膜之间复合而使病毒不稳定的过程<sup>[34]</sup>。这一知识可为今后遗传疾病治疗药物的开发提供借鉴。较有前景的是 DNA 的阳离子复合物,目前已取得较大进展。在美国和欧洲,已进入临床研究阶段的基因治疗方法中,9%~12%为阳离子化脂质体基因传递系统<sup>[35]</sup>。

如今,计算机程序在帮助新药配基的设计、相互作用的几何模拟以及配基的构象柔性方面都有很好的应用<sup>[26]</sup>。

当 Hughes<sup>[29]</sup>提出“显然,如今金属离子正在控制着各种生物学过程,而生命就是建立在无机和有机化学反应基础上的”这一观点时,他是非常正确的。现代制药技术已经成功运用了各种领域的科学知识,如化学、生物化学、分子生物学、药理学等,来解决药物制备和开发过程中纷

繁复杂的问题。这些科学手段的运用正是整合了人类最优秀的思想来为人类健康服务,并证明无论是今天还是将来,制药业都必将是一门学科交叉的科学。

当今药物复合物的研究成果就好比是许多科学工作者分别从两头共同挖掘一个隧道,一头是在研究解决药物的复合问题,另一头则在研究蛋白质的复合问题。当他们在隧道内汇合的时候,药物与人类机体相互作用的机理将被清晰地揭示出来。

## 参考文献

1. Meyers Neues Lexikon; VEB Bibliograph Institute; Leipzig Germany, 1977; 15, 155—155.
2. Meyers Neues Lexikon; VEB Bibliograph Institute; Leipzig Germany, 1973; 7, 679—682.
3. Meyers Neues Lexikon; VEB Bibliograph Institute; Leipzig Germany, 1974; 8, 43—44.
4. Short Chemical Encyclopedia; State Scientific Publishing House “Sovietskaia Encyclopedia”; Moscow, 1963; 2, 655—674.
5. Blundell, T. L.; Johnson, L. N. Protein Crystallography;

- Mir; Moscow, 1979; 9—262.
6. Singh, S.; Gulati, M.; Gupta, R. L.; Complexation Behavior of Azathioprine with Metal Ions. *Int. J. Pharm.* 1991, 68, 105—110.
7. Okhamafe, A. O.; Akerele, J. O.; Chukuka, C. S. Pharmacokinetic Interactions of Norfloxacin with Some Metallic Medicinal Agents. *IJP* 1991, 68, 11—18.
8. Kidani, Y.; Asano, Y.; Noji, M. Synthesis of Platinum (II) Complexes of 4-Substituted  $\alpha$ -Phenylenediamine Derivatives and Determination of their Antitumor Activity. *Chem. Pharm. Bull.* 1979, 11, 577—2588.
9. Sher, A.; Veber, M.; Marolt-Gomiscek, M. Spectroscopic and Polarographic Investigations: Copper (II)-Penicillin Derivatives. *Int. J. Pharm.* 1997, 148, 191—199.
10. Valentova, J.; Gombosova, I.; Zemlicka, M.; Laginova, V.; Svec, P. Radioprotective Activity of N-Salicylideneaminoalkanoatocopper (II) Complexes. *Pharmazie* 1995, 50 (6), 442—443.
11. Alvarez-Fuentes, J.; Caraballo, I.; Boza, A.; Llera, J. M.; Holgado, M. A.; Fernández-Arévalo, M. Study of a Complexation Process between Naltrexone and Eudragit® L as an Oral Controlled Release System. *Int. J. Pharm.* 1997, 148, 219—230.
12. Holgado, M. A.; Fernandez-Arevalo, M.; Alvarez-Fuentes, J.; Caraballo, I.; Llera, J. M.; Rabasco, A. M. Physical Characterization of Carteolol; Eudragit L Binding Interaction. *Int. J. Pharm.* 1995, 114, 13—21.
13. Gasheva, L. M.; Kalinkova, G.; Minkov, E.; Kretev, V. IR Spectroscopic Investigations of Amoxicillin Trihydrate Included in the Technological Models Sirup Granules in Ethylcellulose. *J. Mol. Struct.* 1984, 115, 323—326.
14. Kalinkova, G.; Krasteva, S. IR-Spectroscopic Investigation of Interactions in the Drug Preparation Nystatin-Plaque. *Recent Developments in Molecular Spectroscopy*; Jordanov, B., Kirov, N., Simova, P., Eds.; World Scientific; Singapore, 1989; 705—709.
15. Singla, A. K.; Wadhwa, H. Zinc-Indomethacin Complex; Synthesis, Physicochemical and Biological Evaluation. *Rat. Int. J. Pharm.* 1995, (120), 145—155.
16. El-Monem, A.; Foda, Said, S. Effect of Complexation of Indometacin with Calcium Glycero-phosphate on its Bioavailability, Ulcerogenicity and Antiinflammatory Activity in Rats. *Pharm. Ind.* 1991, 53 (1), 94—97.
17. Hosny, E. A.; Al-Angary, A. A. Bioavailability of Sustained Release Indomethacin Suppositories Containing Polycarbophil. *Int. J. Pharm.* 1995, 113, 209—213.
18. Imai, T.; Shiraishi, S.; Saito, H.; Otagiri, M. Interaction of Indomethacin with Low Molecular Weight Chitosan, and Improvements of Some Pharmaceutical Properties of Indomethacin by Low Molecular Weight Chitosans. *Int. J. Pharm.* 1991, 67, 11—20.
19. Büyüktimkin, S.; Büyüktimkin, N.; Rytting, J. H. Interaction of Indomethacin with a New Penetration Enhancer, Dodecyl 2- (N, N-Dimethylamino) Propionate (DDAIP); Its Effect on Transdermal Delivery. *Int. J. Pharm.* 1996, 127, 245—253.
20. Kawashima, Y.; Lin, S. Y.; Ogawa, M.; Handa, T.; Takenaka, H. Preparations of Agglomerated Crystals of Polymorphic Mixtures and a New Complex of Indomethacin—Epirizole by the Spherical Crystallization Technique. *J. Pharm. Sci.* 1985, 74 (11), 1152—1156.
21. Lee, H.-K.; Hajdu, J.; McGoff, P. Propranolol; Methacrylic Acid Copolymer Binding Interaction. *J. Pharm. Sci.* 1991, 80 (2), 178—180.
22. Takahashi, T.; Takayama, K.; Machida, Y.; Nagai, T. Characteristics of Polyion Complexes of Chitosan with Sodium Alginate and Sodium Polyacrylate. *Int. J. Pharm.* 1990, 61, 35—41.
23. Ratajczak, H.; Orville-Thomas, W. S. Molecular Interactions; Mir; Moscow, 1984; 11—150.
24. Rachnev, N.; Kalinkova, G.; Toneva-Balucheva, R.; Kretev, V. Some Investigations of Interactions Between Dextran Promethazine Hydrochloride and Pectins-Promethazine Hydrochloride. *Pharmazie* 1986, 36 (5), 20—25.
25. Kalinkova, G. N. Infrared Spectroscopy in Pharmacy. *Vibrational Spectroscopy* 1999, (19), 307—320.
26. Kubinyi, H. Review: Strategies and Recent Technologies in Drug Discovery. *Pharmazie* 1995, 50 (29), 647—662.
27. Arlington, S. A. How to Survive in Tomorrow's Healthcare Market. *Pharm. Sci. Technol. Today* 2000, 3 (1), 1—3.
28. Kalinkova, G. N. Review: Studies of Beneficial Interactions Between Active Medicaments and Excipients in Pharmaceutical Formulations. *Int. J. Pharm.* 1999, 187, 1—15.
29. Hughes, M. N. The Inorganic Chemistry of Biological Processes, 2nd Ed.; Mir; Moscow, 1983; 10—407.
30. USP 24/NF19 U. S. Pharmacopeia E National Formulary 2000; United States Pharmacopoeial Convention, Inc.; Rockville, MD, 2000.
31. Dibner, M. D. The Pharmaceutical Industry: Impacts of Biotechnology. *Trends in Pharmacol. Sci.* 1985, 6 (9), 343—346.
32. Taylor, P.; Mikol, V.; Kallen, J.; Burkhard, P.

Walkinshaw, D. M. Conformational Polymorphism in Peptidic and Nonpeptidic Drug Molecules. *Biopolymers* 1996, 5, 585—592.

33. Sponer, J.; Sabat, M.; Burda, J. V.; Leszczynski, J.; Hobba, P.; Lippert, B. Metal Ions in Non-complementary DNA Base Pairs: An Ab Initio Study of Cu (I), Ag (I) and Au (I) Complexes With Cytosine-Adenine Base Pair. *J. Biol. Inorg. Chem.* 1999, 4 (5), 537—545.
34. Fujii, G. To Fuse or not to Fuse: The Effect of Electrostatic Interactions, Hydrophobic Forces and Structural Amphiphilicity on Protein-Mediated Membrane Destabilization. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 38, 257—277.
35. Kabanov, A. E. Taking Polycation Gene Delivery Systems From in vitro to in vivo. *Pharm. Sci. Technol. Today* 1999, 2 (9), 365—372.

### 进一步阅读

- Blundell, T. L.; Johnson, L. N. *Protein Crystallography*; Mir: Moscow, 1979, 9—262.
- Hughes, M. N. *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*, 2nd Ed.; Mir: Moscow, 1983; 10—407.
- Kalinkova, G. N. Review: Studies of Beneficial Interactions Between Active Medicaments and Excipients in Pharmaceutical Formulations. *Int. J. Pharm.* 1999, 187, 1—15.
- Kubinyi, H. Review: Strategies and Recent Technologies in Drug Discovery. *Pharmazie* 1995, 50 (29), 647—662.
- Ratajczak, H.; Orville-Thomas, W. S. *Molecular Interactions*; Mir: Moscow, 1984; 11—150.

(潘 俊 陶芸莺 译)



## 非临床研究质量管理规范综述

Nigel J. Dent

Country Consultancy Ltd., Northamptonshire, United Kingdom

### 引言

非临床研究质量管理规范 (GLP) 是 1976 年颁布的关于非临床安全性试验研究的指导性文件<sup>[1~8]</sup>。有些国家称之为指南, 也有些国家称之为法令。

现行 GLP<sup>[9]</sup> 文件是国际经济合作发展组织 (OECD) 颁布的 GLP 管理规范, 成为社会各界广泛认可的行业标准。该文件是 1997 年 1 月颁布的<sup>[10,11]</sup>, 该文件必须与其他研究指导原则结合起来使用, 如 OECD 的毒理学指导原则。GLP 管理规范旨在覆盖非临床安全性研究的方方面面, 并对非临床安全性试验研究如何遵循相关的管理法规做出指导性规定<sup>[12]</sup>。在此基础上, 在欧盟指导政策或谅解备忘录的范围之内<sup>[13]</sup>, 所有 OECD 国家都承认符合该指南的非临床研究数据。然而, 许多国家都有与之效力相同的重要的指南和法令, 如美国食品药品监督管理局 (FDA)<sup>[14]</sup> 与美国环境保护署 (EPA)<sup>[15~20]</sup> 颁布的法规, 以及日本相关部门颁布的法令等<sup>[21]</sup>。OECD 成员国或采用相似管理规定的国家, 其非临床研究数据都将被美国和日本所承认。环境保护局颁布的法规是针对农用化学品及杀虫剂的。然而, 最新的修订案使之与其他机构的文件保持一致。

除了某些国家称作法令以外, 这些指南性文件旨在指导非临床研究的实施, 并确保遵从 GLP 原则, 但这些指南并不能规定试验应如何进行。

尽管监管当局和受理当局负责上市批准和非临床研究文件的技术审查工作, 但所有的研究工作都必须符合 GLP 的规定。

### 指南的目的

GLP 的总体目标形成于 20 世纪 70 年代早期, 当时一个制药企业及一个合同研究组织 (CRO) 将实验数据上报给 FDA 时, FDA 对数据的准确性感到担忧, 甚至质疑其可靠性。

那时, FDA<sup>[22]</sup> 对所有进行非临床研究的公司和研究所都进行了全面的检查, 尽管当时制药行业总体诚信度较高, 但是仍然有制药企业的非临床研究数据无法保证质量, 有时甚至编造试验数据。这种现象促使 FDA 制定并颁布 GLP 条例<sup>[23,24]</sup>。

在接下来的十年中, 许多国家都引进了相似的质量管理规范。虽然世界上许多国家都依照 OECD 在 20 世纪 80 年代早期颁布的标准性文件进行非临床研究, 但欧盟<sup>[25]</sup> 仍然制定了一个行业标准。该指南的贡献在于, 它能保证一

个公司向 OECD 内部<sup>[26]</sup> 的不同国家 (尤其是英国) 提交试验数据时, 只需一个监察当局对其进行检查<sup>[26,27]</sup>。这保证了一个公司提交的数据不必经过若干次检查就能被不同国家承认。

GLP 的目的在于提供保证数据可追溯性及可信度的规范管理程序, 在保证研究者的自由度的前提下, 对试验数据和实验工作进行严格的控制。

在非临床试验中, GLP 只是最基本的规范。GLP 的要点在于: 文件的质量、人员培训、所有仪器设备的维护及校对、数据正式归档及保存并可检索、使用高质量的经验过的仪器和检测系统 (试验动物)。

总体来说, 以上只能保证研究的科学管理, GLP 通过设置独立的质量保证单位 (QAU)、任命参与项目资源的控制和管理并对整个非临床研究负责的试验负责人或主要研究员, 来提高药物非临床研究的水平。

GLP 可以视作对非临床试验科学性的提升。GLP 的细节将会在后文中进行阐述。

### GLP 对谁造成了影响?

任何公司和研究所进行非临床安全性试验研究, 都要提交关于新的化学实体、新的生物制品、免疫制剂、杀虫剂、兽药或农业化学品的非临床安全性研究的数据; 或与前述相同的产品若想最终上市, 在实验室研究阶段安全性试验都必须遵循 GLP 规定。

在一个公司内部, 上至高级管理人员, 下至初级技术人员, 都必须接受 GLP 培训并在工作中时刻遵循 GLP 规定。

为保证研究者遵循 GLP, 大多数国家都规定两年进行一次强制性现场检查, 该项规定的目的在于作为独立的机构, 检查 GLP 的实施情况。确保公司按照 GLP 规范进行试验研究工作是最基本的要求, 这将在后文中提及。

进入 21 世纪, 制药产业将因为并购而收缩, 合同研究组织 (CRO) 将在非临床研究方面越来越活跃<sup>[28~31]</sup>。然而更重要的是, 委托方必须确保这些研究机构不仅能够保证试验的科学性, 同时确保 GLP 遵从性; 这样这些研究机构作为合同实验室得出的试验数据才能和委托方得出的试验数据一样被接受。

### 为什么要制定 GLP?

一般而言, GLP 对于进行非临床研究的机构<sup>[34]</sup> 是强制性要求, 未通过 GLP 认证的机构出具的试验数据将不被管



理部门认可。

但是研究机构不能仅将通过 GLP 认证作为最终目标，而是应该不断地提升实验室的质量标准。

事实上，据笔者的经验，过去的五年里，许多机构对于 GLP 规范的认识有失偏颇，全面保证试验的科学性和严谨性的理念被仅仅遵循 GLP 规范<sup>[35]</sup>所替代。有些公司仅仅通过 GLP 规范约束试验活动，无法保证数据质量。这种情况在实验室里屡见不鲜，比如，冰箱的位置超出规定范围；GLP 规定要记录温度、签名并记录日期，但出现超出规定温度范围的情况时却没有进行记录或将温度调至规定范围。他们认为只要将温度记录下来就算是符合 GLP 规定了，而全然不顾温度若超过了规定范围将有可能影响储存在冰箱内的药物。

近些年，许多以前遵循 GLP 规范的研究者主动承认，在 GLP 出现之前他们并不知道如何科学地进行非临床试验研究。GLP 的出现不仅是对非临床研究进行规范，而且是不同国家不同实验室都普遍适用的管理规范，并且降低了申报的风险。

当然，研究者提交的有 GLP 声明的数据比较容易被管理当局接受，并且能够避免重复研究，从而达到研究者减少使用试验动物的目标。

从公司的角度来看，进行遵循 GLP 的试验研究表明他们对最终将进入人类食物链或造福于人类的产品的试验数据的态度是严谨和负责任的。

## GLP 如何实施?

OECD 成员国设置检查员的历史已超过 14 年了，各国检查员的数量不等，美国多至数百人，一些非临床试验研究较少的国家少到只有两三个人。有些国家的管理部门还肩负数据的审查工作，并向 GLP 监督机构汇报。管理部门每两年进行一次检查，在德国四年进行一次检查，那些声称自己符合 GLP 规定的公司也要接受这种滚动式审查<sup>[36]</sup>。

和其他行业的强制性许可不同，研究机构必须向管理部门声明自己符合 GLP 规定。单个公司、实验室，甚至单个试验都必须进行 GLP 声明。自向管理部门递交 GLP 声明的那天起，研究者提交的数据都被视作符合 GLP 要求。检查部门随后将派出一两个人进行 1~5 天的检查，以证实声明的真实性。检查结束时将举行一次总结会议，检查员通常会出具一份检查报告。报告中写明检查过程中发现的不符合 GLP 规定的地方，并在会上讨论，并形成报告。根据检查过程中发现的问题，可分为三个等级：

(1) 不符合 GLP 的地方太多，数据的完整性和真实性遭到质疑的，拒绝研究者的声明，并有必要组织进行二次检查。

(2) 检查过程中发现有不符合 GLP 的细节，能在一定时期内改正，视情况决定是否符合 GLP 规定。

(3) 检查过程中发现不符合 GLP 的地方很少，不符合规定的地方在一个月内的支持性文件中有记载，这种情况

下提出的声明、认证证书被认为该研究机构符合 GLP 标准。这取决于该国是否有 GLP 认证。如果颁发了 GLP 认证证书，表明自检查日起，该实验室就被认定为符合 OECD 的 GLP 管理规定。同样，GLP 还要求进行设备认证。设备被分为分析支持设备、急性毒性、致突变性或相似的名称。

现在世界上通用的非临床研究质量管理规范的基本标准是 OECD 指南或日本、美国的相似的标准。检查员对文件进行检查。可以说检查员只是就程序进行审查或者说是检查员对试验实施者的解释是否符合 GLP 的判断。为了避免这样的评论，保证检查员的工作能按照标准程序进行，OECD 在 4 年前就制订了一系列联合互访的规定 (MJV)<sup>[37]</sup>。

联合互访即由一名当地检查员对公司进行检查，同时还有两个来自不同国家的检查员作为观察员陪同进行检查。检查结束时，当地检查员将出具一份总结，会下，两位观察员将对检查员的工作进行总结。为了保证检查的连贯性，三位检查员中的一位将参与下一次的联合互访。

在过去，几个主要国家之间签署了谅解备忘录 (MoU)<sup>[38]</sup>，比如日本和英国、美国和日本或加拿大等。但是这些谅解备忘录因种种原因最后都变成一纸空文，尤其是在欧洲，因为欧洲国与国之间不能进行直接的对话。欧盟中心布鲁塞尔是国与国之间交往的纽带。因为欧盟内部的谅解备忘录要经过另外一个国家的讨论，所以这些谅解备忘录几乎都未生效。

## 什么是 GLP?

在概论中曾提到过，GLP 是保证非临床安全性研究实施及数据准确性的一系列指南。

OECD 的指南中对研究行为及人员都有详细的要求。OECD 颁布的 GLP 主要内容有：职责、人员培训、质量保证、标准操作规程、研究方案和研究报告、数据产生及记录、仪器维护及校对、计算机及验证、测试系统与供试品、归档。

这些领域的综述将在后文中提到。

### 1. 职责

GLP 规范中涉及的主要角色有管理者、委托方、专题负责人、主要研究者和质量保证人。

在等级结构中，管理者对整个工作的实施负有全部责任，不仅要保证有充足的资源可供利用，还要确保有人对研究工作的实施负责监管。

委托方是与 CRO 签订合同的公司，或是公司里委托其他部门进行非临床研究的部门。委托方是为非临床研究活动出资的人。

专题负责人负责制定研究计划、负责试验的实施和撰写总结报告。试验中会授权其他人进行相关工作，都必须以书面形式记录。专题负责人对实验实施、与研究组成员

## F

的沟通、预防记录问题、确保实验按计划实施、遵循 GLP 规范和相关指导原则负责。

主要研究者是多中心非临床研究中的责任仅次于专题负责人。比如，他们可以是通过 GLP 认证的研究中心的研究者。虽然专题负责人对整个研究计划负责，但主要研究者对部分工作负有主要责任。有些公司会与公司内部的分析部门签订合同，比如药物浓度分析。负责这种特定方面研究工作的人即主要研究者，他对专题负责人负责。另一种典型的情况是，CRO 在专题负责人的管理下进行研究工作，比如 CRO 对血清毒代动力学研究，样本送给委托方分析。委托方的分析结论将由主要研究者签名。

### 1.1 质量保证

质量保证部门是一个独立的机构，它不参与非临床研究，而仅仅是审查数据、实验工作、实验文件是否符合标准操作规程、实验方案和 GLP 的要求。此外，质量保证部门负责对员工进行 GLP 培训等（详情请见本章第二部分 OECD 的 GLP）。

### 1.2 人员培训与记录

管理部门需确保人员经过培训，研究负责人确保从事非临床研究的人员经过了良好的培训且有完整的培训记录。至少每个员工必须有一份简历、培训记录和详细的岗位职责。对于专题负责人要详细说明其任职资格及岗位职责。

除此之外，还应有详细培训计划，应及时记录培训情况并归入档案，归档的培训记录也要注意时时更新，应全面记录受训人参与实验的情况、过去接受过的培训和进行相关 GLP 工作的能力等（参见 OECD 原则，第一部分，2a~d）。

## 2. 质量保证

前已论及此部门履行独立审查职能。质量保证部门的职责包括对试验研究方案、正在进行的实验工作、数据和非临床总结报告的审查。

除此之外，质量保证部门还负责试验系统与过程的审查。

质量保证的目的在于确保整个试验过程始终符合 GLP 的要求，保证数据的真实性，所有的操作都符合标准操作规程，所有的研究人员都遵守非临床研究方案。实验过程的审查与实验方案直接相关。试验系统的审查不仅纵向检查研究工作的各个流程环节，而且还横向检查各项工作，包括归档、培训、标准操作规程、验证、实验动物房的管理和其他管理活动。这只是系统审查涉及的几个方面，由此我们可以对系统审查具备感性的认识。

另外，1997 年的 GLP 修订案提出了过程审查。过程审查旨在对短期研究行为进行检查，通常是由研究人员进行自我检查。研究工作开始后，质量保证部门的标准操作规程规定要在一定时期内对需要进行过程审查的这一部分工作进行审查。这种规定的目的在于保证研究过程的重要方

面都必须在一段时期内被检查。这样 QA 不需要对所有的短期研究的每个环节都进行审查，也不需要每批药物的分析进行检查，或对每个样本的血液和生化分析进行检查。

质量保证部门要有自己的标准操作规程，详细说明的关键步骤、试验，并将检查结果报告管理者。

每一次检查结束需撰写检查报告，并与专题负责人讨论，就检查结果及其解决方案达成一致后将检查报告递交给管理部门（关于 QA 审查的详细内容参见 GLP 原则第二部分，20 页）

### 3. 标准操作规程（SOP）

有人将 SOP 比作对不安全的实验的全方位总结。任何影响实验安全性的行为都要被记录在文件中。SOP 文件是一系列行为的汇编，或者规定某个具体行为，如电子天平的校对和使用。这些工作都必须由管理部门认可的熟悉该工作的人来进行。

SOP 完成后，每两年要进行一次修订，任何改动需要以书面形式记录，修订内容需得到各方的认可。SOP 文件也要复印、归档。要建立一套 SOP 管理系统，负责人应能了解全部的 SOP，并能及时地更新替换旧文件，确保 SOP 定期经过修订，及时处理不再需要的 SOP。

新的 SOP 生效后，要及时发放到相应工作地点，以保证所有人员都能阅读。通常，SOP 是培训的基础，许多公司都有 SOP 培训计划。在接收 SOP 时应保存接收记录，并及时制订培训计划，SOP 规定的职责都必须在培训记录中体现出来。

未经授权，不得擅自复印 SOP 文件，否则有可能将错误版本的 SOP 文件发送给接收者。任何私自复印 SOP 文件的个人将无权接收 SOP 文件及其更新文件。

GLP 的一个重要规定就是要求将 SOP 的历史文件进行归档。SOP 的日期和历史记录证明以往的 SOP 是不得更改的，也证明了当时的工作程序。

SOP 文件可以是书面的，也可以是电子版的。实验室里越来越倾向于用电子版本来记录。对于 SOP 的检查就是检查 SOP 档案是否准确、是否有电子版复印件、SOP 系统是否能防止未经授权的复印和非法变更（见 GLP 原则第二部分，24 页）。

### 4. 试验计划与报告

在试验开始前要制订试验计划。试验计划中阐明所有试验过程、所需资源、时间安排以及试验目的。试验计划就像一幅地图，参加试验的人员拿到试验计划后会对整个试验过程包括试验的开始、实施过程和试验结束一目了然。GLP 的一个黄金法则就是：一份试验计划、一个专题负责人和一份总结报告。

试验总结报告涵盖试验方案中的所有内容，确保达到试验目的，对试验数据和讨论给出特定的结论。

QA 负责审查试验计划和总结报告，每份试验计划和总结报告都有研究机构固定的格式。

这两个文件必须有典型的标题。

## 5. 数据

原始数据是第一手资料，可以是电子版的，也可以是手工记录的。

无论是电子版还是手工记录的，原始数据必须签署原始签名和日期。对用热敏纸记录的结果必须复印一份，以防纸张在一段时间后毁坏。

电子数据以磁盘、软盘或其他介质保存。用计算机和软件使之再现时能保证 100% 的可读性。

许多类型的电子介质、机器可以记录毒性实验的原始数据。虽然如此，用得最多的存储介质却是纸张。

人们使用纸张和缩微胶卷许多年了，它们以稳定性和再现性著称。其他的电子介质不具备长时间的再现性，许多行业和公司都倾向于使用纸张。

数据应当被及时、清晰地记录下来，并签署名字和日期，修改的地方不能遮盖原来的错误，错误的数据被改动或修正时必须有修改人员的签名，并标注修改日期。无论是手工记录还是电子版，这一程序都有相同的标准。应用计算机记录时必须确认改动的原因及修改的人员。

## 6. 仪器设备

毒理实验有简单的仪器也有复杂的仪器，很难要求用有限的文字描述所有型号的仪器。

GLP 规定，在使用仪器前要对仪器进行维护、校对并进行适于使用的标识。

像高效液相色谱 (HPLC) 这样的仪器应检查其系统适用性、安装校验和操作校验。

其他仪器如离心机和天平应进行维护、校对。应使常用的已知质量的标准物品校对天平，以保证该天平产生的实验数据的精确性。即使使用的是电子校对天平，仍然要对天平进行手工校对。

每台仪器都要有一本日志记录其过去的使用情况、发生的故障、维修情况等。通常，这些日志中的关键数据会被记入总结报告中。

所有仪器开始产生实验数据的时候都必须明确标识。如果不需要使用该仪器时，应将该仪器搬出实验室，或贴上标签，写明“不作为 GLP 用途”。

GLP 很强调对仪器进行校对和验证，但是检查人员还是会检查仪器是否贴了“符合要求”的标签（对仪器的详细规定参见 GLP 原则，第二部分，22 页）。

## 7. 计算机

在过去的几年中，计算机在毒性试验的很多方面有着举足轻重的作用。目前工业领域的趋势以及检查人员的要求就是保证计算机是被充分验证有效的。

然而，对于“验证有效”，不同的人有不同的理解。一些公司及其信息技术组织 (ITG) 将会拆卸计算机、软件部分，重新组装、检测，然后再重装软件系统。另外一些

公司及其信息技术组织会采取更加现实的方法，他们本着以下出发点——计算机是用来完成某一特定任务的，而且假设此项任务可在计算机的帮助下以可再现和可接受的方式完成。

简单地讲，就是通过验证能证明“计算机能完成购买时设定的任务，更重要的是，能在可预见的时间内继续完成此类任务的证据”。换言之，计算机是否和其他设备一样能满足试验目的？

一些文件已经有规范的书面规定，如最有益的为 OECD 试验准则第 10 章中关于计算机系统在 GLP 中的应用<sup>[39]</sup>。许多书中对有关计算机的细节和内容都有详尽的阐述，但是很难在这些书中找到能给出验证要点以及提供符合 GLP 的 SOP 内容的光盘的简单文件！在参考文献中已经列举了几个案例<sup>[40~42]</sup>。

检查员最为关心的是负责通过验证和提供报告的使用者可以控制试验设备，并且他们可以在数据录入计算机及转换成其他形式时，确保和证明数据的完整性。

以下情况企业一般来说都可接受：大多数计算机能完全满足可接受性测试，并且确保在公司安装软件的前提下，计算机可以实现其购买的功能。然而，每台计算机必须考虑其在公司中应该扮演的角色，与之相匹配的测试必须能确保数据的完整性，且确保输出结果的总体控制是可维护的。

与其他所有仪器一样，计算机的维护和校准记录是至关重要的。如果内部软件程序一旦产生，它们就要接受测试并使其有效，同时它们的源代码也必须有效。计算机记录保存的重要要求之一是变化控制、密码保护及操作人员培训（参见 GLP 原则第二部分，7 (b)，p. 25）。一项重要的规则是电子署名记录规则，在资料经过电子处理结束后必须加以检查。1997 年 8 月 20 日 FDA 的此项要求生效，所有的具有电子签名和 FDA 被官方通报要求的所有数据均涵盖在内。

## 8. 试验系统

试验系统是一个比较复杂的名称，但仅指实验动物。然而，试验系统一直被使用是因为在许多毒理学实例中，GLP 目前应用于诸如地下水、土壤、蚯蚓和蜜蜂这样的昆虫、水蚤这样的微生物，因此，“动物”一词并不总能适用。

主要标准是试验系统的起源和它的繁育史清晰明了，一般实验动物是从知名的或者是可信任的供应商处购买，经过检疫期观察，以此确保试验系统是高质量的并可应用的。

如果发现试验系统“濒死”，必须给予精心照顾、控制环境条件，提前处死，并在尸体解剖前实施安乐死。不同种属动物和实验系统要有独立的饲养室，临床观察、给药、特殊实验 [如心电图 (ECG)] 等动物实验的所有内容，均需要详细记录和在 SOP 中列出。

需要详细记录动物饲养环境条件、动物饲养室及能充

## F

分反映动物房内和实验动物所发生的所有操作的动物房日志。动物、笼具和笼具放置地点的唯一标识也是至关重要的。

要求有温度和通风的完整文档记录,同时,在屏障系统内,需要定期记录正负压差并署名。这些记录也应当包括任何一个故障及故障的矫正。此外,“允许范围外的偏差”必须记录在案。必须评价偏差对研究和数据的完整性的影响,专题负责人必须在总结报告中说明(附加信息参见 GLP 原则,第二部分,3.2,21 页)。

## 9. 供试品

在大多数情况下,供试品是新的化学实体(NCE)或者是现有化学物质;比较测定仪,成品药,兽药或者农药;甚至医疗器械。了解合成、特性、稳定性和其他的理化特性等内容是非常必要的。稳定性一般首先由短期试验确定,但在长期毒性试验开始前应完成总的稳定性和特性的研究。稳定性试验最好和活性组分以及制剂的稳定性试验平行进行,需要明确:在给药期内供试品的稳定性能满足试验要求。

供试品管理的关键点是供试品的使用量可追溯。应当准确记录毒性试验中接收的供试品总量,并确保在整个试验周期中供试品的使用量可以追溯。

另外,应详细记录给药溶液的特性,很多公司把是否符合 GLP 的要求作为最基础的标准。动物设施中供试品的使用,维持悬浮液的均匀性,将受试物混合于饲料中,以及对受试物的测定都是基本要求。这只是毒性试验中的一部分内容,用于支持毒理试验的分析部分,需在 GLP 原则下进行。进行受试物溶液和受试物混饲中浓度测定,是为了确保各个剂量组受试物活性成分的含量和试验方案中规定的一致。在进行分析测定前,必须建立分析方法,并进行验证,然后才可以用于受试物溶液浓度的分析和毒代动力学中血样浓度的分析。

要求对供试品活性成分留样。保存期限为可满足合理的测试需求,或由分析部门决定的失效期之内。同时非短期研究也需要留样。这是 GLP 修订案中一度尚未充分考虑的特定领域之一。最初,规定对长于四周的研究进行留样,后来这项内容修订为“非短期试验”。GLP 术语中对短期试验的定义为“具有重复过程的短期持续性的研究”。必须承认,这并没有很大的指导意义(参见 GLP 第二部分,关于系统的附加信息,3.3,21 页及 6.1~6.2,23 页)。

## 10. 档案文件

前面已经阐述了研究活动的方方面面,可见在试验过程中会累积很多的文件、组织样本、玻片和蜡块。GLP 要求将这些原始材料保存“一段时间”。GLP 对实验材料储存的规定比较少,可以参照各国对于原始数据保存的指导原则。非常重要的一点是,所有这些需要保留的材料至少要保存 15 年,或失效后保存 2 年以上,需保证良好的保存条件,并可查阅。

通常公司都会保存 15 年以上,或在失效后 2 年以上。

所有实验材料应放置于易于拿到的安全位置,并由管理部门指派专门的档案管理员管理。档案的安全性包括排除外部损坏、火灾、水灾、鼠虫等。

关于如何档案的具体要求,可以参照人事管理部门或图书馆的相关要求(对档案的详细规定请见不列颠档案标准第二部分,22 页和 29 页)。

## 如何维护设施使之符合 GLP?

检查认定该实验室符合 GLP 标准后,每天都应该进行监督。笔者认为许多公司在通过 GLP 认证后就懈怠了,两年后得知要再一次接受检查时,会突击花上一个月时间紧急整理文件、更新系统。建议质量控制部门定期进行审查,以保证及时查出不符合 GLP 规定的地方,并举行项目会议,由质量保证部门出具审查纲要公示。

按照 GLP 规定对人员进行培训和再培训是非常重要的。引进新的仪器设备、修订 SOP、研究者或技术人员在部门之间调动都需要进行培训。必须记住,GLP 是一个团队的任务,不要认为研究者和技工与质量保证部门是对立的。不要期望 QA 可以不需要 QC 的帮助而独立地检查出总结报告和审查报告中的所有错误。这不是 QA 的问题;QA 只是确保各部门按照 GLP 要求运作,质量控制和数据审核是研究组每个成员的职责。

在委托研究中,质量提升应与质量控制指南相一致。对以下问题定期进行内部检查是很重要的:①实验中遇到的问题;②检查中的发现;③审查 SOP 和新系统的运行情况,审查它们是否是最新版本的;④其他值得改进的地方。

例如,在委托研究中,除了 QA 的检查,各部门都要进行自我检查。每个部门都可以指定一个 QA 代表,QA 代表的职责就是审查日常工作是否符合 GLP 标准,了解全公司的质量政策,确保除 QA 检查外,进行了自我检查,部门定期对发现的问题进行改正并制定时间表。

促使公司保证遵从 GLP 原则的动力之一就是监察部门的外部检查。除了外部检查,公司还会请独立的顾问来进行预检查。无论是从外部请一位顾问还是内部指派一个部门来进行内部区域检查,都必须保证定期检查 GLP 的执行情况。

如果和 CRO 签订研发合同,检查方面的工作就和以上完全不同。公司通常因内部压力、缺乏足够空间、内部缺少专业人员而将业务转包。与 CRO 合作和在公司内部建立 GLP 系统一样。CRO 可被认为是公司进行非临床研究的外部设施。

## GLP 的优势及缺陷

最后对 GLP 的优势及缺陷做一个总结。

GLP 的一个缺陷就是限制了科学家的自由研究。仿佛一个独立的机构侵入研究过程,时刻监督为什么会出现问

题、出现了什么问题,这个独立的机构还定期与高级管理部门一起对这些问题进行审查。颁布了 GLP 规范以后,研究工作更加费时,且因多了第三方审查,研发费用上涨。数据记录要经过质量控制、必要的审批,花费更高昂的成本,而且记录的数据比以往更多,还要花费大量时间撰写 SOP。这些都需要投入大量的人力、物力和财力。笔者得知某公司用 6 个月时间,花费了 5550 美元来撰写 SOP 文件,这些 SOP 文件是公司的最重要的东西。

其他公司和人员可能也感受到了 GLP 的这种缺陷。本章并不是想把 GLP 的所有缺陷一一列出,而是说明 GLP 使研发活动耗费更多的时间、金钱和资源。然而这种投入也有效果,GLP 的优势也非常明显。

对于过去 20 年一直和 GLP 打交道的人来说,他们通常认为 GLP 提供了一个更好的研究标准,减少了重复工作,研发过程的每一阶段都有文件记录。因为有了强制审查和检查,非临床研究的数据结论的真实性更有保障了。

GLP 规范大大减少了重复研究工作,最直接的优势就是降低了实验材料的使用量。

通过了 GLP 认证的实验室出具的数据将得到所有 OECD 成员国的认可,也就是说,一旦实验完成并提交了实验结果,获得多国批准的时间将大大减小。

最初在 1976 年强制推行 GLP,很快 GLP 就被广泛认可为行业的质量标准。

由此看来,所有按照 GLP 原则来进行的非临床安全性研究得出的结果不仅能保证更高实验成功率,而且也更容易通过行政审批。

### 参考文献

1. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Nonclinical Laboratory Studies. Proposed Regulations for Good Laboratory Practice Regulations. Proposed Rule, Federal Register, 1976; 41, 51206—51228.
2. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Nonclinical Laboratory Studies. Good Laboratory Practice Regulations. Final Rule, Federal Register, 1978; 43, 59986—60020.
3. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies; Amendment of Good Laboratory Practice Regulations. Amendment, Federal Register, 1980; 45, 24865.
4. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Good Laboratory Practice Regulations. Proposed Rule, Federal Register, 1984; 49, 43530—43537.
5. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Good Laboratory Practice Regulations. Final Rule, Federal Register, 1987; 52, 33768—33782.
6. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Good Laboratory Practice Regulations. Minor Amendments. Final Rule, Federal Register, 1989; 54, 15923—15924.
7. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Good Laboratory Practice Regulations. Removal of Examples of Methods of Animal Identification. Final Rule, Federal Register, 1991; 56, 32088.
8. U. S. Food and Drug Administration (FDA), Good Laboratory Practice Regulations. Technical Amendment, Federal Register, 1994; 59, 13200.
9. OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring, ENV/MC/CHEM (98) 17, As revised in 1997. <http://www.oecd.org. ehs/chsmono>.
10. Dent, N. J. Comparison Between the Principles of GLP 1992 as Defined in Monograph 45 and the Draft Revision of the Principles of GLP As Published by OECD on 6th January 1997. Qual. Assurance J. 1997, 2, 7—12.
11. Dent, N. J. European Regulatory Compliance Issues: Good Research Practices. J. Am. Coll. Toxicol. 1994, 13 (1), 79—85.
12. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals; OECD; Paris, 1993.
13. Directives EEC/87/18, EEC/9, EEC/88/320. Official J. European Commun. 1992.
14. U. S. Food and Drug Administration, Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies; Title 21, Part 58, Code of Federal Regulations, FDA, 1993.
15. U. S. Environmental Protection Agency (EPA), Pesticide Programs: Good Laboratory Practice Standards. Final Rule, Federal Register, 1993; 48, 53946—53969.
16. U. S. Environmental Protection Agency (EPA), Toxic Substance Control; Good Laboratory Practice Standards. Final Rule, Federal Register, 1993; 48, 53922—53944.
17. U. S. Environmental Protection Agency (EPA), Toxic Substance Control Act (TSCA); Good Laboratory Practice Standards. Final Rule, Federal Register, 1989; 54, 34034—34050.
18. U. S. Environmental Protection Agency (EPA), Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act (FIFRA); Good Laboratory Practice Standards. Final Rule, Federal Register, 1989; 54, 34052—34074.
19. Good Laboratory Practice Standards (FIFRA), EPA. Federal Register 1993; Title 40, Part 160, Code of Federal Regulations, Final Rule revised as of July 1.
20. Good Laboratory Practice Standards (TSCA), EPA. Federal Register 1993, Title 40, Part 792, Code of Federal Regulations, Final Rule revised as of July 1.
21. Shillam, K. W. GLP Legislation 16—29. Good Laboratory and Clinical Practices: Techniques for the QA Professional; Carson, P. A., Dent, N. J., Eds.; GLP Regulations Management Briefings — Post Conference Report. U. S. Food and Drug Administration; Rock-

- ville, MA, 1979.
22. Lepore, P. D. Overall Responsibilities for GLP 29—39. Good Laboratory and Clinical Practices: Techniques for the QA Professional; Carson, P. A., Dent, N. J., Eds.
23. Lepore, P. D. Good Laboratory Practice Regulations: Questions and Answers; Available through FDA FOI, FDA, (HFI-35); Rockville, MA, 1979.
24. Lepore, P. D. Good Laboratory Practice Regulations: Questions and Answers; Available through FDA FOI, FDA, (HFI-35); Rockville, MA, 1981.
25. Broad, R. D.; Dent, N. J. An Introduction to Good Laboratory Practice 3—16. Good Laboratory and Clinical Practices: Techniques for the QA Professional; Carson, P. A., Dent, N. J., Eds.
26. Commission Directive 1999/11/EC of 8th March 1999. Official J. European Commun. 1999, L77/8 23.03.99.
27. Commission Directive 1999/12/EC of 8th March 1999. Official J. European Commun. 1999, L77/8 23.03.99.
28. Good Laboratory Practice Regulations 1999. Statutory Instrument 1999 No. 3106. <http://www.hmsa.gov.uk/si/si1999/19993106.htm>.
29. Dominated by the Urge to Merge. Scrip Magazine January 1999, 46.
30. A Strategic Approach to R&D Outsourcing. Scrip Magazine July/August 1999, 29.
31. R&D Trends Gives Clues to Future. Scrip Magazine July/August 1999, 17.
32. How Much of a Threat is Virtual Pharma? Scrip Magazine November 1999, 41.
33. The Right Treatment for the Right Patient. Scrip Magazine January 2000, 11.
34. OECD Glossary. OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. ENV/MC/CHEM (98) 17. As revised in 1997. <http://www.oecd.org/ehs/ehsmo>.
35. Dent, N. J. Forget Compliance and Concentrate on Science. Qual. Assurance J. 1998, 3, 103—108.
36. Personal Communication from OECD.
37. Personal Communication from OECD.
38. Personal Communication from OECD.
39. OECD GLP Consensus Document on the Application of the Principles of GLP to Computerised Systems. Environment Monograph (10), 116, OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. ENV/MC/CHEM (98) 17. As revised in 1997. <http://www.oecd.org/ehs/ehsmo>.
40. Computerized Data Systems for Non-Clinical Safety Assessment—Current Concepts and QA; The Drug Information Association; Maple Glen, PA.
41. Double, M. E.; McKendry, M. Computer Validation Compliance—A QA Perspective; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL.
42. Chamberlain, R. Computer Systems Validation for Pharmaceutical and Medical Device Industries; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL.
43. U. S. Food and Drug Administration. Electronic Records; Electronic Signatures; Final Rule, Federal Register, 1997; 62, 13429—13466.
44. Lawrence, R. G. Archives 155—171. Good Laboratory and Clinical Practices: Techniques for the QA Professional; Carson, P. A., Dent, N. J., Eds.; 155—171.
45. Piton, A. Quality Assurance: The Present and Future Role of International Standardization. Implementing International Good Practices—GAPs, GCPs, GLPs, GMPs; Dent, N. J., Ed.; 251—265.
46. Kracht, W. R. Implementing the ISO 9000 Quality Standards in a GMP or GLP Environment. Implementing International Good Practices—GAPs, GCPs, GLPs, GMPs; Dent, N. J., Ed.; 267—277.

### 进一步阅读

- Carson, P. A., Dent, N. J., Eds.; Good Laboratory and Clinical Practices—Techniques for the Quality Assurance Professional; Butterworth.
- Compliance Programme Manual. <http://www.fda.gov/ora/cpgm/default.htm>.
- Dent, N. J. Implementing International Good Practices—GAPs, GCPs, GLPs, GMPs; Interpharm Press Inc.; Buffalo Grove, IL USA, 1993.
- EPA Homepage. <http://www.epa.gov>.
- EuropeanQuality. <http://www.euroqual.org>.
- GALPs. [http://www.epa.gov/doc/irm\\_galp](http://www.epa.gov/doc/irm_galp).
- GLP Regulations Questions and Answers. <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
- Good Research Practices—A Practical Guide to the Implementation of the GXP.
- Good Laboratory Practice on Line. <http://www.glp guru.com>.
- International Organization for Standardization. <http://www.iso.ch>.
- OECD Homepage. <http://www.oecd.org>.
- Title 21 Code of Federal Regulations Part 58. <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/index.html>.
- U. S. Federal Register—Environmental Issues. <http://www.epa.gov/fedrgstr>.

(陈阳常艳译)

## 非注射给药剂型

Shailesh K. Singh

Wyeth-Ayerst Research, Pearl River, New York, U. S. A.

Venkatesh Naini

Barr Laboratories, Inc., Pomona, New York, U. S. A.

### 简介

剂型是设计好的将活性成分送入体内的药物输送系统,通过给药将药物以一定速率和一定剂量送入体内来确保理想的药效。药物制剂是药物传输系统将有效成分以一定的速率和剂量送入人体,达到预定中的药效。制剂的生产是在 cGMP (现行良好的生产规范) 的条件下,使用设备和包装以确保产品的稳定性。制剂在每次使用时都要达到相同的治疗效果,为了保证每一批次的制剂的可重复性,生产过程必须经特殊的质量保证体系验证。非注射给药剂型以给药途径或外形分类。以外形分类,可以分为固体、液体(均匀体系和非均匀体系)、半固体和喷雾。也可以按照给药途径分类。固体剂型包括多种不同的压制片、颗粒剂、丸剂、锭剂、包衣片、硬/软胶囊等。液体剂型包括溶液剂、混悬剂、乳剂、口腔和舌下喷雾剂等。局部给药的剂型通常用于皮肤,包括软膏剂、糊剂、乳膏剂、洗剂、搽剂、透皮贴剂等。有些剂型用于腔道给药,如直肠栓、尿道栓、阴道栓等。吸入气雾剂利用定量吸入器(MDIs)、干粉吸入器(DPIs)和雾化器,通过呼吸道给药;经过鼻腔给药的一般为溶液剂和混悬剂;经过眼部给药的溶液剂和混悬剂则由眼部达到局部和全身治疗的效果。

### 固体制剂

#### 1. 散剂和颗粒剂

散剂是干燥的分散较好的药物和化合物的均匀混合物,可用作口服和外用,散剂也可以作为粒径较大、流动性好的颗粒剂使用和给药。散剂通常装在合适的宽口容器中,含有大剂量相对无毒的药物,如用于口服的混合三硅酸镁散剂。吸入散剂是将药物的粉末喷到耳部、鼻腔或咽喉。

#### 2. 片剂

流动性和可压性是成功制备片剂的两个重要参数。流动性决定了颗粒从加料斗到冲头的流动容易程度,不足的流动性使药物粉末在加料斗中形成拱起、桥接,产生中空。通过应用强制饲料装置可以机械改善药物的流动性,也可以通过加入助流剂改善药物的流动性,如微粉硅胶和滑石

粉。另一种方法就是通过喷雾干燥或滚圆法将颗粒制成球形。片剂的制备包括干法和湿法两种。干法又包括药物—辅料混合物的直接压片法、两次压片法、滚压法。可直接压片的辅料可能是流动性不好的崩解剂,如微晶纤维素(Avicel PH102);流动性好的但不崩解的辅料,如磷酸氢钙(DiPac®);或者是在溶液中崩解的流动性好的粉末(如喷雾干燥乳糖、无水乳糖、右旋葡萄糖、蔗糖、直链淀粉等)。药物与辅料混合之后,直接进行压片。有吸湿性或对热敏感的药物通过压片或预压法进行干法制粒,混合粉末被压成致密物或预压片。还可以将均匀混合的药物粉末经滚筒挤压后形成坚硬的饼状,将这种设备称为干压机。这些致密物或预压片经过碾磨和过筛得到流动性较好的颗粒。制粒是混合均匀的粉末粒径增大的过程,同时增加了堆密度、流动性和系统的可压性。湿法制粒是将粉末混合物与黏合剂和润湿剂进行混合,润湿剂应当易挥发、无毒并能干燥除去。湿法制粒不适合易于水解和对热不稳定的药物。黏合剂以溶液形式加入,也可以干燥或黏性状态加到混合粉末中。液体的选择取决于制粒颗粒的性质,水通常单独使用,或者与黏合剂一起使用。通常使用的非水溶剂为异丙醇和乙醇。混合制粒过程通常在低速或高速搅拌制粒机内完成,溶液加到或喷在移动的粉末层上,直到形成大量均匀的润湿的软材为止。通过摇摆制粒机合适的筛孔得到所需的颗粒大小。有时制粒中内加成分和外加成分是分开的,以防止辅料之间不相容,或者能得到更好的分布、压片或溶出。片剂生产需要有不同的作用的辅料,稀释剂是加入药物中使片子大小合理的情性的填充剂,通常片剂为50~60mg,因此剂量很低的药物需要填充剂制成至少50mg的片剂。表1列出了一些经常使用的辅料。吸附剂,如微粉硅胶和高岭土,能吸附大量的液体仍保持干燥。黏合剂在湿法制粒中用来黏合粉末,增强压片的强度。黏合剂可以混合在干燥的粉末中,也可以在湿法制粒时以溶液状态加入。表2列出了一些压片时常用的黏合剂。通常加入崩解剂以促进片剂的快速崩解,来增加表面积并促进药物的溶出。崩解剂作用的机理不尽相同,如膨胀作用和毛细管作用。表3列出了一些常用的崩解剂。助流剂加入片剂处方后可以改善颗粒的流动性,减少颗粒与颗粒之间的摩擦(如微粉硅胶)。加入润滑剂能减少颗粒与冲头和模圈壁的黏附。许多润滑剂也能增加颗粒的流动性,滑石粉和硬脂酸镁作为冲头的润滑剂比较有效,而硬脂酸用于模圈壁的润滑作用更好。表4列出了常用的一些润滑剂和助流剂。

表 1 片剂中常用的稀释剂/填充剂

填充剂	性 质
葡萄糖	吸湿的柔软颗粒；有无水和单水化合物；无水化合物可压性较差
磷酸二钙	价格低廉，水中不溶，市场上 Datab® 未研磨而 Encompress® 具有特定颗粒大小（较好的流动性）
$\alpha$ -乳糖一水合物	价格低廉，相对惰性，用处较广，经常与 Avicel® PH MCC 合用，来改善崩解
甘露醇	易溶解，尤其是用于咀嚼片；粉末的流动性和可压性较差；颗粒型流动性较好
微晶纤维素	较好的可压性，有崩解特性；不同的规格用于特殊的用途
氯化钠	易溶解，用于溶解片
蔗糖	有甜味但吸湿，可以被乳糖稀释

表 2 片剂中常用的黏合剂

黏合剂	用量/wt%	性质
天然树脂（阿拉伯胶，西黄蓍胶）	1~5	能形成坚硬的颗粒，质量差异大
纤维素衍生物	2~5	最常用的为 HPMC，作为湿的黏合剂
明胶（可由合成高分子替代）	5~10	很强的黏附性，用于锭剂；冷却时为凝胶；不适宜在炎热的气候下使用
葡萄糖	高达 50	很强的黏附性；但吸水
聚乙烯吡咯烷酮（PVP）	2~20	溶于水和一些有机溶剂（相对分子质量不同，溶解度有差异）
淀粉浆	5~10	通常用于黏附剂；在干燥状态下不溶
预胶化淀粉	10~25	一个更好的淀粉浆的替代品
海藻酸钠	0.5~3	形成坚硬的颗粒；延长崩解时间
蔗糖 NF	高达 70	吸水；储存时使片剂变硬

表 3 片剂中常用的崩解剂

崩解剂	浓度/wt%	商品名及性质
海藻酸和藻酸盐	2~10	
二氧化碳		在泡腾片内产生
离子交换树脂		Amberlite®
硅酸镁铝	高达 10	Veegum®；经常轻微地着色
微晶纤维素	高达 20	Avicel；具有润滑性；可直接压片
淀粉 NF	5~20	Starch 1500®（预胶化淀粉）
十二烷基硫酸钠	0.5~5	主要用于润湿剂，也可促进崩解
羧甲基纤维素钠	1~2	Nymcel®
羧甲基淀粉钠	2~8（干）	Primojel®；Explotab®
淀粉	5~10	从玉米、马铃薯、谷粒中制得
交联羧甲基纤维素钠	2~4	Ac-Di-Sol®，可同时用于内加和外加制粒中（1%~2%）
交联 PVP	2~5	Polyplasdone XL®，Crospovidone NF



表4 片剂中常用的润滑剂和助流剂

辅料	种类	用量/wt%	性质
硬脂酸镁和硬脂酸钙	润滑剂	0.25~2	减小片剂强度, 延长崩解, 水中不溶, 优良的润滑剂
硬脂酸	润滑剂	1~4	尤其适用于模圈壁的润滑
聚乙二醇	润滑剂	2~5	相对分子质量 4000~6000, 溶于水, 中等润滑性
液状石蜡	润滑剂	高达 5	有分散的问题
十二烷基硫酸钠	润滑剂	0.5~5	中等润滑性, 具有润湿性, 与硬脂酸酯合用
硬脂酰醇富马酸钠	润滑剂	0.5~2	对可压性和过分混合不敏感
十二烷基硫酸镁	润滑剂	1~2	溶于水
滑石粉	润滑剂	1~2	不溶于水但不疏水
	助流剂	0.2~0.3	
二氧化硅胶体	助流剂	0.1~0.2	很好的助流剂
淀粉	助流剂	0.2~0.3	主要作为崩解剂
微晶纤维素	助流剂	0.2~0.5	主要作为稀释剂/填充剂

### 3. 特殊的片剂种类

**锭剂:** 在嘴里溶解的不含崩解剂的压制片剂。用于局部治疗(咽喉锭剂)或全身治疗(维生素)。

**泡腾片:** 在水溶液中由于内部的二氧化碳的释放而能迅速溶出活性成分的片剂。通过加入碱金属的碳酸盐或碳酸氢盐和酒石酸或柠檬酸, 当泡腾片放置水中时, 会释放出二氧化碳。用热融合技术(heat fusion technique)来制备泡腾片。通常使用水溶性的润滑剂以避免水表面的浮渣。甜味剂使用糖精, 因为蔗糖吸水并能增加片剂的体积, 如 Rochelle salt<sup>®</sup>。

**咀嚼片:** 这些片剂常被那些吞咽整个药片有困难的小孩和老人所偏爱。它的另一个优点在于服用时无须喝水。甘露醇因为较好的口感和质地作为基本的稀释剂, 而且它还能有效地掩盖药物令人不快的味道。咀嚼片通常由湿法制粒压片制得, 压片时仅需要较低压力。通过加入大量的芳香剂来改善口味。抗酸剂通常制成咀嚼片。

**舌下片和口含片:** 放置于舌下或口颊处, 并能通过黏膜吸收立即产生全身治疗效果, 避免了首过效应。例如, 硫酸异丙肾上腺素和硝酸甘油, 此片剂体型小而扁平, 不崩解, 是在较低压力下压得柔软的片剂。

**模制片:** 药物和稀释剂辅料通常为不同量的乳糖和蔗糖粉未经混合压制而成。根据药物和填充剂的溶解性用含较多乙醇的溶剂润湿粉末。润湿的粉末在冲模圈内以较低压力压片。片剂的固化取决于接下来的干燥过程中的晶体桥接作用, 而不是压片时的压力。

**多层片:** 由几层不同的颗粒叠加压成一个药片。当制剂中不同成分不能相互配伍时, 也可以制成双层片, 如盐去氧肾上腺素在一层中, 维生素 C 和对乙酰氨基酚在另一层中。

### 4. 调控释放制剂

调控释放用于描述那些具有基于时间、过程和(或)

给药部位释放特性的剂型, 可以达到传统的或速释剂型无法达到的治疗效果或用药方便的目的。半衰期短但长期使用、治疗指数较高和吸收方式一致的药物是采用这种剂型的理想药物。这些剂型可以延迟或缓释释放。缓释制剂与普通制剂相比至少减少两倍的给药次数。延迟释放制剂在服用后较长时间释放全部或部分药物。延迟释放可能基于时间或特定的环境, 如肠溶包衣制剂。其他的一些调控释放制剂, 包括重复给药和靶向释放给药。大多数控释片产品都是很好的缓释制剂, 这些剂型按不同的释放机理和(或)处方类型进行分类。包衣微丸、微球和其他微粒系统是控释剂型中的小丸类, 药物通常包裹在不含药的小丸上(低剂量)或由含有药物的颗粒制得(高剂量)。各种包衣辅料包裹这些小丸得到多种不同释放特性(如 Eudragits<sup>®</sup>, HPMC, Surelease<sup>®</sup>)。这些小丸可以用来填充胶囊(如盐酸苯丙醇胺, Spansules<sup>®</sup>)或在较低压力时压成片剂(如 Theo-Dur<sup>®</sup>)。在有些情况下, 可以压制 3~4mm 直径的微片, 这些片剂具有丸剂的功能, 可以填充胶囊。微囊化是将药物微颗粒包以薄的包衣材料。一些正在使用的包衣材料包括明胶、乙基纤维素、聚乙烯醇, 如 Micro-K-Extencaps<sup>®</sup> (Wyeth-Ayerst Research)。骨架系统为药物与亲水性的高分子纤维素(辅料)混合体系形成的剂型, 在体液中缓慢地溶蚀。在水合作用下, 高分子材料形成凝胶, 阻止片剂的快速崩解。药物从凝胶中扩散控制其释放(如硫酸吗啡缓释片剂)。多层片由几层不同的颗粒叠加压成一个有两到三层的药片, 每层由单独的加料装置以不同的剂量压成。预压填充物可以增加层间的黏合, 压片时较低的压力可以防止层与层间的混杂。多层片可能由速释和缓释双层组成, 或者由不能配伍的药物层组成。有时候各层药物的释放也经过控制, 如 Geomatrix<sup>®</sup> 给药系统<sup>[1]</sup>。在有些情况下, 如果片剂的堆密度小于 1, 片子可能漂浮在胃液上, 因此增加了其在胃肠道内的停留时间。这样的剂型被称为流体动力学平衡系统(HBS), 如罗氏的 Valrelease<sup>®</sup>。

## F

在某些情况下, 药物分散在惰性的聚合物材料骨架中, 如聚乙烯和聚甲基丙烯酸酯等, 制粒后被压成片剂。这些惰性的聚合物材料在粪便中以原型排出, 如 Abbott 的 Ferro-Gradumet<sup>®</sup>。有些药物形成复合物, 像缓释制剂一样, 产生较慢的溶出, 如 Carter-Wallace 的 Rynatan<sup>®</sup>。一个缓慢溶蚀的片剂由疏水辅料的颗粒压成 (蜡状的亲脂材料), 所以药物的溶出较为缓慢, 外层含速释剂量 (阿司匹林缓冲)。在某些情况下, 一个阳离子或阴离子药物溶液可以与不溶解的树脂反应形成复合物。这个复合物可以被压片、灌胶囊或混悬在介质中, 如 Medeva 的氢可酮 Pennkinetic<sup>®</sup> 缓释混悬液。渗透泵给药系统由药物片芯、经激光打孔的包衣半透膜材料组成。片芯通常包括含药层和渗透推动层两层。在胃液中, 推动层吸收水分 (吸进) 然后对药物产生压力 (推出), 将药物挤出释药孔。这个剂型被称为胃肠道治疗系统, 与胃液 pH 无关, 如 Pfizer 的 Procardia XL<sup>®</sup>。重复作用的片剂由缓慢释放的片芯和速释部分组成, 如 Schering 的 Repetabs<sup>®</sup> 或双层 IR/ER 片。延迟释放的剂型适用于在胃中易被破坏, 或者产生胃壁刺激, 或者更适合在肠部被吸收的药物。这种剂型用肠溶包衣, 如邻苯二甲酸醋酸纤维素、虫胶和蜡。包衣使药物能在更高的 pH 条件下释放 (pH 依赖性), 或者通过酶催化反应, 如红霉素或阿司匹林延迟片。一些口服的控释制剂已经上市; 然而, 大多数药物与通过胃肠道的速度相关, 通过物理化学方法可以改变药物的释放, 或者控制制剂在特定时间下所处的释放环境<sup>[2]</sup>。

## 5. 胶囊

胶囊来自拉丁文 capsula, 意思是小盒子。明胶为具有独特性质的天然物质, 因其无毒并在体温下能较好地溶于体液而被应用。明胶有很好的成膜性, 而且在水和水-甘油的系统中, 在稍高于室温的条件下, 经过可逆的相变从溶液变成凝胶。明胶分为 (A 和 B) 两种, 依赖于从动物皮肤和骨头制备的工艺。生产囊壳的重要因素是黏性和强度, 硬胶囊坚硬具有刚性, 而软胶囊柔软有弹性。这是因为软胶囊包含大量的增塑剂, 如甘油、山梨醇、丙二醇、阿拉伯胶和蔗糖。根据软胶囊的用途而加入不同比例的增塑剂。加入的着色剂分为可溶和不可溶两类。二氧化钛和三氧化二铁是常用的着色剂, 最近铝色淀也经常被使用。胶囊中加入防腐剂防止微生物感染。在储存时湿度也控制在较低的水平以便抑制细菌的生长。

### 5.1 硬胶囊 (HGCs)

硬胶囊从 000 号 (最大) 到 5 号 (最小)。胶囊的填充量和混合粉末的叩击堆密度 (tapped bulk density) 决定了胶囊的大小。最近, 胶囊封口的技术得到改进, 如自锁, 已经可以应用于大多数的材料。填充物不应该与明胶发生反应。醛作为增塑剂导致明胶的交联, 影响囊壳的完整性, 在处方中水会起到增塑剂的作用。另外, 吸湿剂可以使囊壳变脆。填充硬胶囊的粉末需要有较好的流动性以保证均

匀的填充量。制粒的颗粒和球形小丸使它们的流动性较好并不易碎, 在重力或特殊的填充装置作用下保证均匀地填充。在某些情况下, 微片 (薄膜包衣, 非易碎片) 可填充胶囊制成特殊的剂型或是隔开不能配伍的成分。在对液体或半固体填充硬胶囊的原有方法上有了最新的发展。其中, 遇到的最大问题是胶囊的泄漏。通过胶囊自锁和处方工艺可以克服这个难题。遇热软化或振摇触变的混合天然材料得到了更广泛的应用, 这些材料经过加热或振摇就会液化, 而其填充在囊壳内又会转化为固态。现有的粉末填充设备经过改变已经可以加工这样的处方, 包括固体、液体、半固体和潜在的药物。半固体药物填充的应用也越来越多。在硬胶囊上的最新发展是填充液体胶囊, 利用能够热封囊帽的新型设备来彻底防止以前灌装时的漏液现象, 如用于液体灌装的 Licaps<sup>®</sup> (Capsugel)。与明胶不相容的物质可以使用不含明胶的胶囊, 如纤维素 (Vegecaps<sup>®</sup>)。

### 5.2 软胶囊 (SGC)

软胶囊或软明胶胶囊是连续的包含液体或半固体的明胶囊壳, 其形成、填充和封口都在一步内完成, 有不同的种类和大小。软胶囊适用于可压性不好、流动性较差、混合不均匀、在胃液的 pH 下不稳定或溶解度较小、生物利用度不高的药物。这些药物可在液体中溶解或分散, 增加剂量的均匀性。液体状或在压片时易熔化的药物, 或者是其他的压片方法较昂贵时, 可制成软胶囊制剂。用于软胶囊的明胶的强度少于硬胶囊, 增塑剂的种类和含量决定了囊壳的机械强度。通常增塑剂的用量较大, 使得硬胶囊的柔韧性增加。防腐剂、着色剂和遮光剂的应用与硬胶囊中同样应用。有时候软明胶胶囊的药物以肠溶衣包衣在小肠内吸收。一旦囊壳在体内溶解, 药物以溶液状或半固体形式溶出或分散成较细的颗粒, 提高了生物利用度。软胶囊中可填充药物的水溶液、非水溶液、混悬液、乳膏、油溶液、自乳化系统和与水混溶的溶液。影响囊壳中水或增塑剂转移的物质不能加入。表面活性剂和极端的 pH 体系也应避免。

## 液体制剂

### 1. 溶液

溶液是性质相同的单相体系, 由两个或更多的成分组成。溶液易于吞咽并易被老人和小孩接受。药物在溶液中更易被吸收, 治疗响应会更快。然而, 溶液体积较大不易携带。药物在溶液中的稳定性小于在固体制剂中, 并且溶液可能有利于细菌的生长。水性溶液由水作为溶剂制备, 大多制剂使用《美国药典》规定的纯净水。一些药物在水中不稳定或对氧气和二氧化碳敏感。不是所有的物质都能溶解在水里, 可能会产生沉淀, 应用一些其他的方法来增加药物在溶液中的溶解度。共溶是利用混合溶剂来增加药物的溶解度。一些适宜的共溶剂是乙醇、异丙醇、山梨醇、

丙三醇和丙二醇。如果一个药物是弱酸性或弱碱性，它在水中的溶解度取决于 pH，最适宜溶解的 pH 不一定会使溶液最稳定。因此，必须选取一个合适的 pH 来保证稳定的处方和较高的生物利用度。如有必要可应用合适的缓冲体系。不溶解的或是难溶的药物可以通过加入表面活性剂增加溶解度，大多数表面活性剂与溶剂系统混溶并能与其他成分配伍。通常使用 HLB 大于 1.5 的亲水型表面活性剂。在一些情况下，药物与材料的复合物可能产生可溶的分子复合物。然而，这些复合物的形成必须是可逆的，使药物能穿过生物膜。药物的化学修饰也可产生水溶性的衍生物。但是，这些修饰过的药物被认为是新的化合物。非水溶液常用于药物不溶于水或在水中不稳定的场合。乙醇是外用制剂中最常用的可与水混合的溶剂；乙醚在制备胶体时，偶尔与乙醇共用作为共溶剂。其他的溶剂，如肉豆蔻酸异丙基酯和棕榈酸异丙酯为低黏度的溶剂，主要用于化妆品的制备，二甲苯主要用于滴耳液用来溶解耳垢。

液体制剂所用的辅料包括缓冲盐、着色剂、矫味剂和防腐剂。缓冲盐溶于溶剂中防止 pH 的变化，它的选择取决于 pH 和缓冲容量。大多数药剂上所用的缓冲盐体系包括碳酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐、葡糖醛酸和乳酸。着色剂的加入增加了亲和力及产品识别，矫味剂加入溶液中增加了口感，特别是对具有不好味道的药物。这对儿科用药尤为有用。矫味剂也有助于产品识别，可分为天然的和合成的两种。水果汁、薄荷油和薄荷醇都是矫味剂。一些矫味剂适用于特定的药物，如薄荷用于抗酸的处方。同样的，某些矫味剂适用于特殊的人群，如小孩喜欢水果味，而成人偏爱芳香味和酸味。防腐剂可以防止细菌的生长，防腐剂的选择建立在抑菌实验上。需要确保容器和包装材料对防腐剂没有吸收。加入抗氧化剂可以防止药物在溶液中的降解；通过测定药物降解的路线和与不同抗氧化剂的稳定性来决定加入抗氧化剂的种类和比例。蔗糖通常用作甜味剂，因为其溶于水，并且在较宽的 pH 范围内稳定，在口腔内有着较好的质地和口感。还有一些其他不常用的甜味剂。人工合成的甜味剂，如糖醇和阿司帕坦常用于糖尿病患者。

## 2. 液体制剂的种类

**饮剂和酏剂：**饮剂含一个或两个大剂量药物的混合溶液，每次服药约 50mL；传统的酏剂为强效的或气味不好的药物溶液，其中含酒精作为共溶剂（60%~70%）。

**糖浆剂：**一个通常应用于镇咳的黏稠的剂型。由高浓度蔗糖药物溶液组成，经常加以甜味剂。

**漱口剂和含漱液：**用于预防和治疗口腔及咽喉感染的水溶性溶液。通常包括防腐剂、镇痛剂和（或）收敛剂。这些溶液可直接使用或将其稀释到热水中。

**滴鼻剂：**体积较小的水性制剂，是 pH 通常为 6.8 的等渗溶液。这些滴鼻剂局部用作抗生素、抗炎药和解充血药。

**滴耳剂：**药物溶于水、丙三醇和异丙醇的液体制剂，局部用于耳朵。包括抗生素、防腐剂、清洁剂和蜡软化剂

（二甲苯）。

**灌肠剂：**（水性或油性）溶液或是直肠给药的混悬剂，起到清洁、检查或治疗的效果。

**洗剂：**无须摩擦地应用在皮肤表面的溶液剂和混悬剂。它可能含有保湿剂，因此当用在皮肤上后，仍能保持湿度。或者含有酒精，在皮肤上快速蒸发产生凉爽的感觉。

**搽剂：**用于按摩皮肤。可能含有如冬青油或樟脑等减少刺激的成分。

**胶体剂：**由挥发性的溶剂制得，在皮肤表面上留下硬的、柔软的膜，能封住小的皮肤切口或保持药物与皮肤的紧密接触。

**中间体溶液剂：**用来制得其他剂型的药剂溶液，用芳香香水作为香味剂，薄荷水和茴香水具有祛风的效果，它们均制成浓缩水溶液，在使用前再稀释。用 25% 的酒精在不加热的情况下提取药物得到浸出液。提取液与浸出液相似，但它是通过蒸发浓缩得到。酊剂是从天然植物或化学物质中得到的含酒精或水-醇溶液，与提取液相比，它的浓度较低。酞剂是挥发性物质的酒精或含水酒精溶液，通过简单的溶解或混合制得。它们用作矫味剂，并可能具有药用价值。糖浆剂是蔗糖或其他糖的浓缩水溶液，其中加入了药物或矫味剂。由于渗透压的作用，细菌生长被抑制，如美国药典中的单糖浆。

## 3. 混悬剂

由不溶的固体颗粒分散在液相中的液体制剂。大多数混悬剂可直接使用，而有些在使用前需要将固体配成溶液。在理想情况下，混悬剂在振摇和分散所需剂量后性质均一，混悬的颗粒应该体积小、大小一致，口感良好、无沙粒感。一些不溶性的固体不易被水润湿，因此需要润湿剂在溶液中均匀分散。一些润湿剂包括表面活性剂、亲水胶体和溶剂。表面活性剂的 HLB 在 7~9 时适合作为润湿剂，大多数表面活性剂的用量在 0.1%。在口服给药中，经常使用吐温和司盘；在外用制剂中，常使用十二烷基硫酸钠（SLS）。一些润湿剂可能引起泡沫和反絮凝系统。亲水胶体，如阿拉伯胶、皂土、西黄蓍胶、藻酸盐和纤维素的衍生物作为保护胶体包裹在颗粒的表面，增加了固体颗粒的亲水性。溶剂，如乙醇、丙三醇和乙二醇均能与水互溶并减少液态/气态的表面张力，增加润湿度。

絮凝来自于拉丁文 *flocculate*，意思是松散和蓬松。絮凝产生快速沉降，因为每个单独的絮状物由许多颗粒组成，所以体积较大。然而由于其结构松散，絮状物通过振摇可以容易地分散开。反絮凝系统由小的颗粒组成，它们的沉降速度较慢，但沉降的颗粒可能会形成一个不可逆转的聚集物，而且较难再分散，这种现象叫做凝结成块。对粗混悬剂来说，反絮凝混悬剂有更好的均一性，但由于凝结而造成较差的稳定性。因此，通过控制部分絮凝混悬剂的黏度，使沉降速度降到最小以便得到稳定的混悬剂。通过控制粒子的大小、电解质的 Zeta 电位和加入的聚合物来控制絮凝。加入到水溶性混悬剂中的无机电解质改变了分散粒

## F

子的 Zeta 电位, 降低了足够多的 Zeta 电位可以产生絮凝。常用的电解质包括乙酸、磷酸和柠檬酸的钠盐。使用离子型的表面活性剂中和粒子电荷可能产生絮凝。有时也加入淀粉、藻酸盐、西黄蓍胶和纤维素的衍生物来控制絮凝的程度, 达到絮凝的状态且增大沉降的体积。混悬剂在低的搅拌速度下, 显示高的黏度, 反之亦然。当然混悬剂的黏度要比较低, 才能从容器中倾倒出来, 如果作为外用制剂则需要均匀地铺展开。注射用的混悬液应能通过皮下注射的针管。阿拉伯胶是用于即时制备的增稠剂。西黄蓍胶可以形成黏稠的亲水性溶液, 它的触变性和假塑性性质比阿拉伯胶更适合作为增稠剂。海藻酸钠可作为助悬剂但不能与阳离子物质混合。一些纤维素的衍生物, 如甲基纤维素 (Celacol®)、羟乙基纤维素 (Natrasol® 250)、羧甲基纤维素钠和微晶纤维素, 在水中分散产生黏稠的胶体溶液, 适合作为助悬剂。蒙托石土或可以水合的硅酸盐, 如皂土、硅酸镁铝和硅酸镁锂合并吸收 12 倍自身质量的水, 其形成的凝胶是触变的, 因此具有很好的混悬性质。Carbopols® 是合成的聚丙烯酸共聚物, 在较高 pH 时能够作为增稠剂。

缓冲液加入到混悬剂中以保持化学物质的稳定并控制张度。密度调节剂, 如蔗糖和丙二醇可以防止在密度上的较大差异而引起的沉淀。矫味剂、着色剂和芳香剂均能改善药品的口味和外观; 保湿剂, 如 5% 的丙三醇和丙二醇加入到外用制剂中, 防止其应用在皮肤上后, 药物变干。防腐剂的加入很重要, 尤其是对于天然的辅料。在一些情况下, 制剂中可能会加入甜味剂, 但需要考虑对最终产品的黏度和絮凝程度的影响。混悬剂通常由胶体磨搅拌制得, 确保较好的流动性和均匀的分散颗粒。口服混悬剂通常加入矫味剂, 较好的矫味剂是氢氧化镁合剂、皂土、皂黏土浆和凝胶剂。所有的这些成分溶胀并形成非牛顿黏性的凝胶。局部给药的混悬剂, 如炉甘石洗剂仅用于外部给药。

#### 4. 乳剂

一种液体 (分散相) 以均匀分布的微小液滴分散在另一种液体中 (分散介质)。根据哪种液体是分散相可分为水包油 (O/W) 或油包水 (W/O) 系统。可通过乳剂的可混溶性、染色和电导率的测定来鉴定乳剂的种类。选择乳剂的类型取决于给药的途径和最终的使用。对口服给药来说, 用水包油乳剂; 对于外部给药来说, 水包油和油包水均可以使用。半固体的水包油乳剂叫做“霜剂”, 使用后能轻易地洗去。油包水乳剂有包合的作用, 因此作为增湿的洗剂和清洁剂。对油相的选择取决于油相的治疗作用, 如蓖麻油和鱼肝油。油包水的制剂较油, 有着较高的表现黏稠度, 而水包油乳剂油性较少, 易于吸收和洗去。理想的乳剂有假塑性和触变性。在低搅拌速度下有着高的黏稠度, 反之亦然。乳剂能在容器、瓶子和试管中分散, 但同时在低的压力下能够在皮肤上扩展。乳剂的流变性由分散相的浓度、颗粒大小和黏度、分散介质的浓度和乳化剂的含量及性质来决定。乳化系统的选择取决于给药途径、HLB 值和毒性。没有药用的乳化剂, 但制药公司使用食品行业批准的

乳化剂。具有表面活性的乳化剂减小了两相之间的张力, 因此减小了液体分散到内相的能量。表面活性剂可以是阴离子, 如长链脂肪酸的钠、钾和铵盐 (如硬脂酸钠)、二价或三价的金属离子 [如油酸钙和铵皂、硫酸磺化物 (如 SLS)]。阳离子表面活性剂、两性表面活性剂, 如卵磷脂, 还有非离子表面活性剂, 如乙二醇和甘油酯 (如甘油单硬脂酸)、脱水山梨糖醇酯、聚山梨酯、脂肪醇的聚乙二醇酯 (如十六醇或十八醇)、脂肪酸的聚乙二醇酯, 这些表面活性剂都经常使用。有时天然存在的物质和它们的衍生物, 如阿拉伯胶、半合成的多糖 (如甲基纤维素)、包含其他成分 (如蜂蜡) 的甾体和羊毛脂, 也可作为乳化剂。其他用作乳化剂的成分是分散很好的固体、抗氧化剂, 如羟苯丁酸酯 (BHT) 和叔丁对甲氧酚 (BHA); 湿润剂和防腐剂, 如苯甲酸、对羟基苯甲酸酯、氯甲酚和苯氧乙醇。

乳剂可以口服 (O/W), 将药物包裹在乳液的内相之中 (掩盖不好的药物气味)。外用时, 乳剂可作为含有有效成分的洗剂或不含药物的 (如化妆品) 洗剂。由于稳定性的要求和所需的工艺流程, 乳剂的生产应用到许多设备。包括分批和连续生产均能使用。胶体磨是常用的传统制备方法。现在, 高压匀浆器、微液滴化机和超声匀浆器都用于制备乳剂。

### 半固体制剂

软膏剂、乳剂和糊剂都是适用于局部给药的半固体制剂。它可能用于皮肤、鼻腔、直肠和阴道。大多数制剂含有一些药物。含药的软膏是用于皮肤或黏膜的半固体制剂。不含药的软膏作为保护剂、润滑剂和润湿剂使用。用于软膏剂的基质有四类, 碳氢化合物、吸收性基质、除水基质、水溶性基质。碳氢化合物基质对皮肤有缓和的作用, 并且可以作为闭合性的辅料 (如凡士林, 《美国药典》)。吸收性基质能够与水溶液结合, 形成油包水的乳剂 (如吸水性软石蜡和羊毛脂)。除水基质也是水包油的乳剂并能用水除去 (如亲水性软膏)。水溶性基质没有油性成分, 被认为是无油脂的可水洗的基质 (如聚乙二醇软膏)。潜在的吸收取决于基质的选择和制剂的用途。合适的软膏基质对透皮给药至关重要。直肠给药的软膏 (如无痛治疗的直肠 Tronolane® 软膏) 和阴道制剂 (Mycellex-7® 抗菌软膏) 均已上市。乳膏为含有一到多个药物的外用半固体制剂。通常说的雪花膏为含有硬脂酸的水包油乳剂, 而冷霜是油性基质的油包水乳剂。乳膏比软膏更加容易铺展, 更易被患者接受。凝胶剂是由小分子或大分子分散在水性介质中形成的半固体剂型, 其中加入了胶凝剂, 如高相对分子质量的 Carbopols®、交联的聚丙烯酸。一些凝胶剂, 如氢氧化镁合剂或糊剂有两相。当振摇时, 由于凝胶-溶液两相的转变, 黏性也发生变化。糊剂是基质含有大量细碎颗粒的软膏, 用于皮肤给药。糊剂比软膏更易吸湿, 并用于吸收血浆的分泌物 (如氧化锌糊)。膏剂为固体或半固体块状物铺展在背衬纸、塑料或纤维上。不含药的称为黏胶带, 含药

的软膏能够在给药处起到治疗的作用。一些含药的膏剂作为泥敷剂,如布洛芬<sup>[3]</sup>和水杨酸膏剂。透皮给药系统通过皮肤给药进入全身循环,有些方法能够增加药物透过皮肤屏障的量,一些吸收促进剂用来暂时增加透皮量。最近,离子导入技术使带电荷的物质利用电场透过皮肤,如氨基酸和蛋白质。超声促渗或高频超声作为有效增加透皮的方法也正被研究中。透皮给药系统有两类主要的剂型。单层的骨架型是将过量的药物分散在聚合骨架中,形成骨架型给药系统,具有被衬和前部的膜,如 Estraderm<sup>®</sup> (Novartis)。膜控的透皮给药贴剂含有凝胶或饱和溶液的药物储库、黏合层和控释膜,如 Transderm-Scop<sup>®</sup> (Novartis)。最近,市场上有许多戒烟的透皮给药剂型和激素的贴剂。目前,更多的研究是开发透黏膜的贴剂。

## 其他的剂型

栓剂是置入体内腔道的固体制剂,如直肠、阴道和较少用到的尿道,产生局部或全身效果。栓剂的长度、形状和质量取决于体内腔道。这些剂型在使用后融化、变软和溶解,则取决于栓剂的基质。可可脂基质在接触体温时就能熔化。其他的基质,如以聚乙二醇、丙三醇、肥皂为基质的栓剂也能溶解。可可脂的栓剂是疏水性的,溶解油溶性的药物但在亲水性的肠液中吸收很差。因此,较好的吸收可通过使用水溶性的基质来实现。直肠栓可用于局部(痔疮)或全身治疗。全身的生物利用度较差,所需的药物比口服给药要多。阴道栓和尿道栓通常用于局部治疗(如抗炎药)。直肠栓重约2g,有各种形状如子弹形或水雷形。尿道栓呈薄的笔样状,尖端变细。阴道栓为球形,重4~5g。通常来说,当直肠无内容物时,直肠栓的吸收较好。固体颗粒的大小在吸收中起到重要的作用。最重要的直肠吸收避免了首过效应。大多数栓剂通过热融浇铸或压缩制得。

## 气雾剂

气雾剂为加压的剂型,由一个或多个药物溶解、混悬或乳化在抛射剂中,或者是溶液和抛射剂的混合物中,通过阀门的喷射,释放分散较好的液体或固体。气雾剂可用于局部给药、体内腔道给药、口服给药或鼻腔给药,喷射出细的固体颗粒或液雾穿过肺的气道、鼻道或口腔(颊或舌下)。那些通过气流喷雾的称为空间气雾剂;传输药物至表面的称为表面气雾剂,其他的称为泡沫气雾剂。气雾剂由药物的浓缩液和液化的抛射剂组成。压力取决于抛射剂的种类和剂量、药物的性质和用量。抛射剂是液化的气体或液化气体的混合物,作为溶剂或载体。在某些情况下,非液化的气体,如氮和二氧化碳也可以使用。空间气雾剂(含85%抛射剂)在70℃下通常为30~40lb/in<sup>2</sup>(表压)。表面喷雾剂(30%~70%抛射剂)在70℃下通常为22~55lb/in<sup>2</sup>(表压)。泡沫气雾剂的压力较低,泡沫气雾剂为

浓缩药物和喷射剂的乳剂,气雾剂为两相的系统,由液化的喷射剂的药物溶液和喷射剂/气体的蒸气相组成。有些喷雾剂为三相系统,由与水混溶的喷射剂、水溶性的浓缩药液或在混悬液/乳液中的药物和蒸气相组成。气雾剂的容器由玻璃(涂层的或不涂层的)、锡、铝和不锈钢制成,有各种喷射阀门和定量阀门(药效较强的药物需要更准确的剂量)。口服的气雾剂主要用于口腔,如 Nitrolingual<sup>®</sup> 喷雾剂每剂量能喷出0.4mg硝酸甘油。呼吸道途径给药有些优势,吸入装置可以产生较好的粒子,通常粒子<10μm,吸入给药通常用于治疗呼吸道疾病,但近来肺部已作为全身治疗的给药入口。因为具有较大的有效表面积,肺能提供一个较好的给药途径。三个主要的剂型,即定量气雾剂(MDI),干粉吸入剂(DPI)和喷雾剂都得到了很好的应用<sup>[4]</sup>。压力定量气雾剂是个加压系统,由含有药物的混悬液的抛射剂和一些其他的辅料,如表面活性剂、抗氧化剂和溶剂组成,也有一些是溶液状态。传统的压力定量气雾剂用氟氯烃类抛射剂(CFC),这些抛射剂因为对臭氧的破坏而被“蒙特利尔条约”禁止使用<sup>[5]</sup>。因此,必须对现有的压力定量气雾剂处方进行改进,选用氟氢烃类(HFC),如HFC-143a和HFC-227。使用新的抛射剂已经得到了FDA的批准,如3M Pharmaceuticals的Airomir<sup>®</sup>。为更好地配合阀门的喷射和患者的吸入,市场上的定量吸入气雾剂需要一些隔板设备(Nebuhaler<sup>®</sup>, AeroChamber<sup>®</sup>, and Breathancer<sup>®</sup>)。近来发展的给药装置为吸入促发气雾剂(Autohaler<sup>®</sup>, 3M Pharmaceuticals),当患者吸入时促发药物的喷射。因为CFCs的逐渐淘汰,而使用HFCs时遇到很多困难,干粉吸入剂和喷雾剂的应用变得更加广泛。干粉吸入剂由微粉化的药物和大粒径的载体(通常是乳糖)组成。这些药物和载体的混合物以胶囊或泡囊装量,如Spinhaler<sup>®</sup> (Fisons Pharmaceuticals)和Rotahaler<sup>®</sup> (GlaxoWellcome Pharmaceuticals)或纯的药物粉末,装成单剂量(Turbohaler<sup>®</sup>, AstraZeneca Pharmaceuticals)。在许多情况下,患者吸入造成药物从载体分散到气流中。最近,为了克服患者用药之间的差异性,已经研发出主动的干粉吸入剂(Dryhaler<sup>®</sup>, Dura Pharmaceuticals)。在这些装置中,患者的呼吸促发了解聚作用,将药物从载体中分离,然后被吸入。新的细化颗粒的技术,如喷雾干燥和超临界流体提取,正被用于制备微细颗粒,包括蛋白质和多肽以到达肺的深部,这将有利于吸入剂的全身给药。喷雾剂利用压缩空气或超声作用产生很细小的亲水或非水药物雾滴,这种剂型的缺点是体积较大,不适合携带。这个领域最近的发展集中在利用电池的可携带装置,能喷出不含或含极少防腐剂的水溶液。

## 儿科和老人用药剂型

生理决定了体内不同功能的发展和表现,更重要的是决定了剂型对人体的影响。儿科用药的剂量通常取决于体重和年龄。FDA定义儿科人群分为新生儿、婴儿、孩童和

## F

少年。据报道,有些辅料会引起不良的反应,如偶氮染料会引起支气管收缩、乳糖引起腹泻的延长和不耐受,而甜味剂,如糖精有少量的致癌性。酒精是常用的儿科非处方溶液剂的溶剂,然而为了减小对孩子的刺激限制非处方药的酒精含量,口服给药对孩子来说是较好的给药途径,但小于5岁的孩童吞咽片剂有困难。因此,口服的溶液剂是儿科用药的最好选择。溶液剂通常不稳定,保质期短且没有准确的剂量。近来,咀嚼片和包衣的灌装胶囊越来越多地用于长牙的孩子。直肠给药用处不是很广泛,因为吸收的差异性较大,肺部给药渐渐变成儿科给药的常用途径,但需要考虑全身效应。透皮给药可能是儿科给药需要开发的另一个领域,因为孩子的角质层与大人一样,已完全发育成熟,可能有利于作为儿科给药的另一种途径。儿科治疗的剂型较少。治疗咳嗽和感冒的非处方药物对儿童有一些损害,然而,大多数药厂没有更多的资源去单独研究新药对儿童(比起成年人患者,人数较少)的安全性和有效性。也许FDA应该建立法规,给药厂提供回报,如减税或延长专利有效时间,并为这样的研究工作尤其是针对危及生命的疾病提供特殊的市场<sup>[6]</sup>。

除了药效学(PD)和药动学(PK)的改变,老年人经受许多长期疾病和生理限制的困扰,因此给药准确性的临床监测变得非常重要。绝大多数药物在老年人体内的药效和药动水平降低,口腔吸收变慢。通常来说,老年人的皮肤对水和其他药物更易透过,然而血浆清除率较低,导致体内分布不完全。生理上的原因、视力的损伤或下降可能会影响自我给药的能力,而且对于老年人来说,吞咽和咀嚼可能也是一个问题,如口干的患者吞咽片剂或胶囊会有困难。同样,没有牙齿的老人不能咀嚼片剂。尽管老年人使用舌下片和口含片,但极少有人考虑到药物在老年人中的生物利用度。口干患者服用此制剂可能觉得局部刺激。胶囊像片剂一样可能导致吞咽困难且不适用于老人。液体制剂易于吞咽,但通常没有单剂量的包装,因此视力受损或手脚不灵活的患者不能准确地服药。透皮给药增加了老年人用药的依从性,但采用透皮途径时需要确定生物利用度。一些剂型和包装工艺的出现改善了老年人用药的依从性。一些包装形式,如单剂量小碟、日历型的包装和药物包装用于提醒老人用药。药物颗粒能和水或食物混合易于吞服。单剂量包装药物仍然可能造成老人服药困难。泡腾片提供了另一种可选择的剂型,这些片剂在水中溶出形成随时可用药液。不规则形状的片剂使片剂不能平躺,这样有利于手脚不灵活的老人使用(如Tiltabs<sup>®</sup>)。与颗粒类似,给药时也可以采用少量浓缩液的形式,如5mL Rapamune<sup>®</sup>浓缩口服溶液(Wyeth-Ayerst Research)。这些剂型可以与食物或饮料混合服用。与此相似的是分散片,能分散于水中产生均一的混悬液。最新的研究集中在使用快速溶出技术(RDTs)的新剂型,这种剂型能在口腔内快速溶解并迅速全身吸收甚至在口腔吸收<sup>[7]</sup>。因为老年人服药的依从性,可以服用不含糖精和钠盐的有利于这个年龄患者的药物。

## 新的给药技术

跨入21世纪,新的给药技术正不断涌现。这些技术提供了众多便利,如简化了用药方案、增加了用药的依从性、改善了临床效果和减少了总的治疗费用。速溶片可用于吞咽标准片剂/胶囊有困难的患者,如小孩和老人。这些剂型包括低压冻干的泡沫来自Zydis<sup>®</sup>(Claritin Reditabs)、Flash-tab<sup>®</sup>(Prographarm)、Orasolv<sup>®</sup>(Cima Labs)、Wowtabs<sup>®</sup>(Shaklee)和Flashdose<sup>®</sup>(Fuisz Technology)<sup>[8,9]</sup>。由英国研究小组的Neil Graham教授提出的以水凝胶为基础的几种吗啡栓剂。由Elan公司提出的Nanocrystal<sup>™</sup>技术,400nm的结晶药物被包裹一层薄的表面修饰物来增加其稳定性。Liquitard<sup>®</sup>作为加入了液体掩味剂的缓释颗粒混悬剂,由Eurand America出品<sup>[10]</sup>。蛋白质和多肽的肺部给药作为吸入治疗的特定技术,使用了新的粉末加工技术使药物能够到达肺部深部,起到全身和局部治疗效果<sup>[10]</sup>。Jago Pharma发明了Geomatri<sup>®</sup>多层的亲水骨架系统<sup>[10]</sup>。一些新的辅料可作为控释给药的基质。包括半乳甘露聚糖中的多糖,如瓜尔胶和豆角胶(如Timerx Technology<sup>[11]</sup>),对于壳聚糖凝胶剂的安全性和有效性的研究,已经做了很多工作<sup>[12]</sup>。固体脂质纳米粒的研究使得在给药时,能够产生较少的副作用、较好的靶向性和避免酶的降解<sup>[13]</sup>。欧洲的Zambon小组发明了Timeclock<sup>®</sup>技术,可以用疏水性的表面活性剂包裹固体药物,影响药物的输送,到达特定的吸收地点以起到局部或全身的治疗效果。Emisphere<sup>®</sup>技术使用载体以非共价键结合药物分子形成复合物<sup>[14]</sup>,这些复合物能轻易地透过膜,并与载体分离释放药物。Theratech使用Theriform<sup>®</sup>微刻技术发明了微剂量片的口服剂和植入剂<sup>[15]</sup>。Delsys公司革新了Accudep<sup>®</sup>干燥粉末静电沉积技术,使得能更准确地给药<sup>[16,17]</sup>。Labopharm公司发明了Contramid<sup>®</sup>技术,由高聚合度交联的具有三维空间结构的直链淀粉与药物结合得到,一旦进入胃部,片剂的表面转化成凝胶,药物则平稳地释放。PORT<sup>™</sup>(程序化口服释放技术)是利用生物药剂学解决药物的技术平台。PORT<sup>™</sup>是一个提供一个或多个药物多重缓释机会的系统这个方法适用于许多药物,并能达到较难达到的药动曲线,如突释系统的零级释放。Quadrant Healthcare能得到微米级的颗粒,增加了稳定性和药动学行为<sup>[10]</sup>。Solidose<sup>®</sup>技术对寡聚糖进行化学修饰增加其疏水性,使其与体液接触时,会经历相变并释放出药物的胶束状系统<sup>[18]</sup>。一些自乳化和脂质给药系统能使口服水溶性药物形成微乳,DanBiosystems发明了Targit<sup>®</sup>技术,可以用偶氮聚合物进行肠溶包衣,能使细菌酶以特定速度降解。Ethypharm为另一家使用超临界流体(CO<sub>2</sub>)技术对易溶于水的药物分子(蛋白质和多肽)<sup>[10,19]</sup>进行纳米和微球包衣的公司。Protarga<sup>™</sup>公司发明了新的剂型,通过共价键合脂肪酸(二十二碳六烯酸或DHA)和药物形成新的化合物,能够被靶向分子吸收。众多的注意力集中在组织工程学上,设计生物替代品或通过使用细胞和

它们的附属器再生组织来保护或替换组织和器官<sup>[20,21]</sup>。Fentanyl Oralet<sup>®</sup> (Abbott 实验室) 是含止痛药的棒棒糖, 用作手术前的镇静剂。一些阴道类给药的制剂, 如 Progestasert<sup>®</sup> (Alza Corp.) 和 Dinoprostone<sup>®</sup> 阴道栓剂已被开发。植入剂, 如左旋甲基炔诺酮 Norplant<sup>®</sup> (Wyeth-Ayerst Research) 作为避孕药埋植入人的上臂。同样的, Gliadel<sup>®</sup> 薄膜 (Guilford Pharmaceuticals) 也被植入脑肿瘤细胞。

## 结语

非注射给药有多种给药机制。近年来, 涌现了许多新药物输送技术公司, 绝大多数技术强调给药系统的独特性和对靶向器官或疾病的选择性。然而, 很少有人意识到药物治疗的改善不仅是新的化合物也是药物与给药系统的结合 (剂型) 的原因。通常做法是研究一种给药系统, 然后寻找合适的药物做成此种剂型。这种方法应该改变, 首先要了解药物治疗什么疾病, 以什么速率、多长时间和作用于什么部位, 然后制成合适的剂型。更应关注的是药效曲线的改善。因此, 药物输送技术的将来依赖于它能怎样满足还没实现的医疗要求<sup>[22]</sup>。

## 参考文献

- Conte, U.; Maggie, L.; Colombo, P.; LaManna, A. Multi-Layered Hydrophilic Matrices as Constant Release Devices (Geomatrix<sup>TM</sup> Systems). *J. Controlled Release* 1993, 26, 39-47.
- Swarbrick, J. Advances in Controlled Drug Delivery. *S. T. P. Pharm. Pratiques* 1996, 6 (1), 53-60.
- Agarwal, V.; Singh, S. K.; Reddy, L. K.; Durranu, M. J.; Khan, M. A. Cataplasma-Based Controlled Drug Delivery: Development and Optimization of a Novel Formulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (5), 659-665.
- Gonda, I. The Ascent of Pulmonary Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (7), 940-945.
- McDonald, K. J.; Martin, G. P. Transition to CFC-Free Metered Dose Inhalers—Into the New Millennium. *Int. J. Pharm.* 2000, 201 (5), 89-107.
- Nahata, M. C. Lack of Pediatric Drug Formulations. *Pediatrics* 1999, 104 (3), 607-609.
- Sastry, S. V.; Nyshadham, J. R.; Fix, J. A. Recent Technological Advances in Oral Drug Delivery—A Review. *Pharm. Sci. Tech. Today* 2000, 3 (4), 138-145.
- Habib, W.; Khankari, R.; Hontz, J. Fast-Dissolve Drug Delivery Systems. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Sys.* 2000, 17 (1), 61-72.
- Chang, R.; Guo, X.; Burnside, B. A.; Couch, R. A. Fast-Dissolving Tablets. *Pharm. Technol.* 2000, June, 52-58.
- Evers, P. Developments in Drug Delivery; Technology & Markets; Healthcare and Pharmaceutical Publishing: London, 1995; Financial Times.
- Altaf, S.; Yu, K.; Parasrampur, J.; Friend, D. R. Guar Gum-Based Sustained Release Diltiazem. *Pharm. Res.* 1998, 15 (8), 1196-1201.
- Illum, L. Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient. *Pharm. Res.* 1998, 15 (9), 1326-1331.
- Pinto, J. F.; Muller, R. H. Pellets as Carriers of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Oral Administration of Drugs. *Pharmazie* 1999, 54 (7), 506-509.
- Leone-Bay, A.; Leipold, H.; Agarwal, R.; Rivera, T.; Baughman, R. A. The Evolution of an Oral Heparin Dosing Solution. *Drugs Future* 1997, 22 (8), 885-891.
- Kastra, W. E.; Palazzolo, R. D.; Rowe, C. W.; Giritliglu, B.; Teung, P.; Cima, M. J. Oral Dosage Forms Fabricated by Three-Dimensional Printing. *J. Controlled Release* 2000, 66, 11-17.
- Chrai, S. S. Electrostatic Dry Deposition Technology. *Pharm. Tech.* 1998, 4, 106-112.
- Houston, S. A Revolution in Dose Form Manufacture. *Manuf. Chemist.* 1998, 6, 20-21.
- Charman, W. N. Lipids, Lipophilic Drugs, and Oral Drug Delivery—Some Emerging Concepts. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (8), 967-978.
- York, P. Strategy for Particle Design Using Supercritical Fluid Technologies. *Pharm. Sci. Tech. Today* 1999, 2 (11), 430-440.
- Langer, R. Selected Advances in Drug Delivery and Tissue Engineering. *J. Controlled Release* 1999, 62, 7-11.
- Tabata, Y. The Importance of Drug Delivery Systems in Tissue Engineering. *Pharm. Sci. Technol. Today* 2000, 3 (3), 80-89.
- Breimer, D. D. Future Challenges for Drug Delivery. *J. Controlled Release* 1999, 62, 3-6.

## 进一步阅读

- Ansel, H. C.; Allen, L. V.; Popovich, N. G. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Ed. Lippincott's Williams and Wilkins; 1997.
- Banker, G. S., Rhodes, C., Eds.; *Modern Pharmaceutics*, 3rd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996.
- Block, L. H.; Yu, A. B. C. *Pharmaceutical Principles and Drug Dosage Forms*. Comprehensive Pharmacy Review; Shargel, L., Mutnick, A. L., Souney, P. F., Swanson, L. N., Block, L. H., Eds.; Williams & Wilkins: 1997; 28-76.
- Byron, P. R., Ed.; *Respiratory Drug Delivery*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1990.
- Chien, Y. W. *Novel Drug Delivery Systems*; Marcel Dekker,



F

- Inc. ; New York, 1992.
- General Information/Pharmaceutical Dosage Forms. USPXXIV; The United States Pharmacopoeial Convention, Inc. Rockville MD, 2000, 2107—2117, <1151> .
- Hickey, A. J., Ed.; *Pharmaceutical Inhalation Aerosol Technology*; Marcel Dekker, Inc. ; New York, 1992.
- Hickey, A. J., Ed.; *Inhalation Aerosols; Physical and Biological Basis for Therapy*; Marcel Dekker, Inc. ; New York, 1996.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., Eds.; *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*; Marcel Dekker, Inc. ; New York, 1980—1982; 1—3.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; *Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, 4th Ed., Lea & Febiger; Philadelphia, 1987.
- Martin, A. N., Swarbrick, J., Cammarata, A., Eds. *Physical Pharmacy*, 3rd Ed., Lea & Febiger; Philadelphia, 1983.
- Robinson, J. R.; Lee, V. H. L. *Sustained and Controlled Release Drug Delivery*, 5th Ed., Marcel Dekker, Inc. ; New York, 1995.
- Shargel, L.; Yu, A. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*; Appleton & Lange; 1999.

(羊臻译)



## 分配系数

Eric J. Lien

Shijun Ren

University of Southern California, Los Angeles, California, U. S. A.

## 引言

对于药学领域各个不同分支学科的研究人员和产品开发人员来说,对分配系数的透彻理解是很重要的。其原理及应用涉及当今药学的多个不同方面,包括提取技术、油水系统的保存、包材的穿透、药物的体内吸收和分布、蛋白质结合和血液透析、药物代谢、酶抑制、药物-受体相互作用、药物传送系统以及药物靶向。由于分配系数是药物亲水-亲油趋向的度量,并且所有的蛋白质(酶、生物膜、血浆和受体蛋白)包含20%~45%带有非极性基团的氨基酸,如亮氨酸、异亮氨酸、苯基丙氨酸、缬氨酸和色氨酸等,人们会有持续的兴趣利用分配系数研究与分子结构的相关生物活性。本章没有涉及分配系数在其他领域的应用,这些领域包括分析化学、毒理学、法医学、生态学和环境保护。

## 历史背景

最初的报道来自于1872年Berthelot和Jungfleisch的观察,当把溶质(如 $I_2$ 或 $Br_2$ )分散于有机相(如 $CS_2$ 或醚)和水相中时,其两相中的浓度比例保持不变,即使上述溶剂的体积比大幅度变动也是如此,可用式(1)来表示:

$$P = C_o / C_{aq} = K \quad (1)$$

式中:  $K$  为平衡常数;  $C_o$  和  $C_{aq}$  分别为溶质在有机相和水相中的平衡浓度。

1921年,Smith认为分配系数 $P$ 可以从一种溶剂系统换算到另一种。30年后,Collander使用水和不同的烷基醇,引进标准线性自由能关系式:

$$\log P_2 = a \log P_1 + b \quad (2)$$

式中:  $a$  为系数;  $b$  为常数。

20世纪初,Meyer和Overton发现大多数有机化合物(营养物质除外)将组织细胞作为一种脂质屏障来穿透,并且其麻醉效果与有机复合物的油水分分配系数呈平行关系。20世纪50年代早期,Collander证明了各种有机化合物对植物细胞膜的穿透率和其油水分分配系数具有相关性。Cohen和Edsal研究了乙醇和水的溶解比率并定义了氨基酸的相对亲脂特性。在Collander、Cohen和Edsal的研究中,都观察到有机化合物分配系数的有限的加和性。60年代早期,Salame和Pinsky建立了permachor方法,如式(3),用来计算 $P$ 值以预测化学药品对塑料膜的穿透性:

$$\log P_i = 16.55 - 3700/T - 0.22\pi \quad (3)$$

式中:  $\pi$  为Permachor常量;  $T$  为热力学温度;  $P_i$  为分配系数。一个通用方程由这些研究者引入,如式(4)所示:

$$\log P_i = K - R\pi \quad (4)$$

式中:  $K$  为温度校正常数;  $R$  为聚合物(如塑料)校正项。有趣的是,与此同时,Hansch、Fujita和合作者对分配系数( $\log P$ 和 $\pi$ )的理解和应用做出了最重要的贡献,并将线性自由能相关(LFER)方法从有机化学拓展到药物化学和生物学领域。分配系数的应用重新受到关注,这导致了很多优秀综述、书籍和专论的出现。

## 理论和实验测定方法

由于分配系数是达到平衡时测定的,所以其特征是溶质在两相中(有机相和水相)的化学势 $\mu_o$ 和 $\mu_{aq}$ 相等:

$$\mu_o = \mu_o^0 + RT \ln c_o \quad (5)$$

$$\mu_{aq} = \mu_{aq}^0 + RT \ln c_{aq} \quad (6)$$

如果 $\mu_o = \mu_{aq}$ , 则

$$P = c_o / c_{aq} = e^{-(\mu_{aq}^0 - \mu_o^0)/RT} = e^{-\Delta\mu^0/RT} \quad (7)$$

式中:  $\mu_o$  和  $\mu_{aq}$  为无限稀释时溶质在有机相和水相中的化学势;  $R$  为摩尔气体常量;  $T$  为热力学温度;  $P$  为分配系数。对于任何化合物来说,在给定溶剂系统和温度下,  $P$  为常量。这种关系被命名为Nernst定律。

和任何平衡常数 $K$ 一样,  $P$  的对数和标准自由能变化呈线性关系:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K \quad (8)$$

对于任何平衡:

$$\Delta G^0 = -2.303RT \log K \quad (9)$$

对于分配过程:

$$\Delta G^0 = -2.303RT \log P \quad (10)$$

由于这种线性自由能关系(LFER),  $\log P$  比  $P$  在大多数线性关系研究中更加常用。

在过去的近35年前后,正辛醇-水作为最常用的溶剂系统。已经证明,对于和生物活性的相关性,有能力形成氢键的有机溶剂(如正辛醇)通常比没有能力的有机溶剂(如 $CCl_4$ 、环己胺和其他碳氢化合物)具有更好的相关性。正辛醇-水分分配系数可以在大量的文献中查到。

另外,如果将对热力学特性如焓变( $\Delta H$ )和熵变( $\Delta S$ )分开感兴趣,采用和水有最小相互溶解度的溶剂(如环己胺或庚烷)会更好。

### 1. 表观分配系数与真实分配系数( $\log P'$ 与 $\log P$ )

如果溶质可以电离(酸或碱),那么它在水相中可以两

种不同的形式存在,因此可以测定表观分配系数( $P'$ )或真实分配系数( $P$ ),如下文和式(11)至式(15)所示:

有机相:	水相:
HA	$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$

$$P = [HA]_o/[HA]_w \quad (11)$$

$$P' = [HAK]_o/[HA]_w + [A^-]_w \quad (12)$$

$$P = P'/(1-\alpha) \quad (13)$$

式中: $\alpha$ 为电离度。

对于酸:

$$\alpha = 1/[1 + \log^{-1}(pK_a - pH)] \quad (14)$$

对于碱:

$$\alpha = 1/[1 + \log^{-1}(pH - pK_b)] \quad (15)$$

由于电离度是水相 pH 和溶质  $pK_a$  的函数,表观分配系数  $P'$  随水相(通常为一种缓冲液) pH 的变化而变化,尽管真实(或修正)分配系数( $P$ )会保持恒定。然而,实际上由于离子对结合程度和所用反离子的极性特征不同,不同的缓冲液种类可以既影响  $P'$  又影响  $P$ 。在不同种类的缓冲液中,正辛醇-磷酸盐缓冲液与正辛醇-水有着最接近的结果。在一些出版物中,表观分配系数  $P'$  也被称为分布系数  $D$ 。

由于不相溶两相的分离只有在重力场存在的情况下才能发生,所以在重力为零的外太空是无法测定分配系数的。

## 2. 摇瓶法

摇瓶法最常用于分配系数的测定,它也验证其他方法的标准程序。一种溶质在两种不相溶的溶剂(有机相和水相)中简单振摇,接着分析溶质在一相或两相中的浓度。为了避免两相中任何一相的体积发生变化,在分配过程之前,两相应该达到互相饱和。确保分析前达到平衡是很重要的。如果溶质不会导致乳化,剧烈振摇可以减少达到平衡的时间,一般几分钟就可以达到。但是,如果溶质既有极性基团又有非极性基团(如皂角甙糖苷或表面活性剂类化合物),应该采用轻柔且缓慢的振摇过程,或使用特殊仪器,如 Doluisio and Swintosky Y-形管或者 Schulman-型池。

一些典型药物分子真实分配系数(未解离或校正过的)介于-2.26~+15.69,如表1所示。

对分布于两相或两相中的溶质的定量,对于带有发色团的化合物,最常用的分析方法为紫外-可见光谱法,其他的如气-液色谱法(GLC)及比色法也用于特定的化合物定量。

表1 代表性药物在正辛醇-水或正辛醇-磷酸缓冲液中测得的真实(校正)的分配系数

药物	logP	药物	logP
L-酪氨酸	-2.26	链脲霉素	-1.45
羟脲	-1.80	氨苯磺胺	-0.73
枸橼酸	-1.72	水杨酸钠可可豆碱	-0.72
抗坏血酸	-1.64	金霉素	-0.62
酚红	-1.45	乙醇	-0.31

续表

药物	logP	药物	logP
联二没食子酸内酯	0.27 <sup>1)</sup>	青霉素	1.83
西咪替丁	0.40	氟仿	1.97
别嘌呤醇	0.43	地塞米松	1.99
甲硫米特	0.50	鬼臼毒素	2.01
普鲁卡因胺	0.51	美托洛尔	2.04
吗啡	0.76	纳洛酮	2.09
麻黄素	0.87	Mathapyrilene	2.81
氨基比林	1.00	苯乙双胍	2.94
秋水仙碱	1.03	拉贝洛尔	3.18
氟霉素	1.14	苯海拉明	3.20
阿托品	1.24	普萘洛尔	3.29
地高辛	1.26	氟氟美松	3.63
啶酸	1.41	黄体酮	3.87
苯巴比妥	1.47	雌二醇	4.01
大豆黄素	1.58 <sup>1)</sup>	它莫西芬	4.03
氢化可的松	1.61	丙氧酚	4.18
苯甲酸	1.72	米非司酮	5.48 <sup>2)</sup>
水杨酸	1.73	$\alpha$ -生育酚	12.28 <sup>1)</sup>
弃白通	1.81 <sup>1)</sup>	$\beta$ -胡萝卜素	15.69 <sup>1)</sup>

1) 使用 BioByte 的 CQSAR 程序计算。

2) 从黄体酮的 logP 值和取代基的  $\pi$  值计算得到:  $\log P_{R_{0.486}} = \log P_{\text{黄体酮}} - \pi_{\text{CH}_3} + \pi_{\text{双键}} + \pi_{(\text{CH}_3)_2\text{N}} + \pi_{\text{C}_6\text{H}_5} - \pi_{\text{COOCH}_3} + \pi_{-\text{O}=\text{C}} + \pi_{\text{CH}_3} + \pi_{\text{OH}} = 3.87 - 0.5 - 0.2 + (-0.18) + 1.96 - (-0.71) + 0.48 + 0.5 + (-1.16) = 5.48$

选择合适的溶剂体积和灵敏的分析方法, logP 值在 -5~+5 范围内的都可以测到。许多分配系统的温度依赖性,为在 25℃ 范围内每变化 1℃ 导致 0.01 个 log 单位的变化。为了高准确度,需要合适的温度控制。这对于挥发性的溶剂更关键,如醚、氯仿、低沸点的烃类,以及碳原子数小于正辛醇的醇。

## 3. 色谱法

近年来,重现性好、精密度高的 HPLC 的应用,推动了色谱法在快速测定分配系数方面的应用。通常,从一系列化合物得到的 logP 和 log K' 的线性关系对同系的其他化合物还需要将 logP 值进行外推或内推:

$$\log P = a \log K' + b \quad (16)$$

容量因子  $K'$  取决于净保留时间  $t_R$  与死时间  $t_0$  有关的相关值:

$$K' = (t_R - t_0)/t_0 \quad (17)$$

这与用薄层色谱(TLC)测得的  $R_m$  线性关系相似:

$$R_m = \log K' = \log[1 - R_f/R_f] = \log(1/R_f - 1) \quad (18)$$

式中:  $R_f$  为比例值。

由于数学公式内在的局限,对所有可能的化合物,  $R_m$  值仅为 -1.996~+1.996。这使得比直接测量 logP 的敏感度要低。然而,对许多化合物而言,测量 logK' 或  $R_m$  比测量 logP 更容易而且更经济。

## 4. 逆流法和过滤探针法

一种基于逆流设备,称为 AKUFVE,当需要一个或一些化合物改变  $T$  或  $pH$  而产生大量信息时,它比较有用。这个方法的缺点在于清洗和操作比较困难,而且需要大量原料。另一个方法是 Tomlinson 过滤探针法,它取体积较大相的样品(一般是水相),然后将其泵入紫外-可见(UV)检测器以监测其平衡状态。将一个重金属探针附在一个带有特殊过滤装置的不锈钢循环管上,这个过滤装置的作用是防止取到非必要相的样品。在比较高的相体积比时,这种方法与摇瓶法有相关性。它可能对不稳定化合物有用,并且作为一个封闭系统,可能会在一个比较大的温度范围内适用。Kaufman 等报道了一种微电子测量滴定法,用来直接测量镇痛剂及其拮抗剂的  $pK_a$ 、分配和分布系数,及其  $pH$  和温度依赖性。基于这个原理,可用一个自动化的仪器同时测量  $pK_a$  和  $\log P$  (美国 pION 公司)。

## 5. 分配系数的计算

5.1 Hansch-Fujita  $\pi$  常数

1964 年, Fujita 等认为  $\log P$  具有加和性,可以通过母分子的  $\log P$  和取代基的  $\pi$  值相加来计算,如式(19)至式(21)所示:

$$\log P = \sum \pi \quad (19)$$

$$\pi_{\text{取代基}} = \log P_{\text{取代基分子}} - \log P_{\text{母分子}} \quad (20)$$

例如:

$$\pi_{\text{CH}_3} = \log P_{\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_5} - \log P_{\text{C}_6\text{H}_6} = 2.69 - 2.13 = 0.56 \quad (21)$$

$$\begin{aligned} \log P_{\text{Cl}(\text{C}_6\text{H}_4)\text{CH}_3} &= \log P_{\text{C}_6\text{H}_6} + \pi_{\text{Cl}} + \pi_{\text{CH}_3} \\ &= 2.13 + 0.71 + 0.56 = 3.40 \end{aligned}$$

3.40 是计算值、测定值为 3.33。

根据定义,氢的  $\pi$  值为 0。从十分亲水到十分亲油的各种基团的  $\pi$  值如表 2 所示。关于各种官能团的  $\pi$  值有大量文献可查。

表 2 一些官能团的  $\pi$  值和  $f$  常数

官能团 X	$\pi_X$		$f_X$ 芳香族系统	
	芳香族系统	脂肪族系统	Rekker	Leo-Hansch
H—	0	0	0.18	0.23
F—	0.13	-0.17	0.42	0.37
Cl—	0.76	0.39	0.93	0.94
Br—	0.94	0.60	1.18	1.09
I—	1.15	1.00	1.47	1.35
CH <sub>3</sub> —	0.50	0.50	0.70	0.89
HC≡C—		0.48		
CH <sub>2</sub> =CH—		0.70		
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> —	1.00	1.00		
CH <sub>2</sub> =C(CH <sub>3</sub> )—		1.00		

续表

官能团 X	$\pi_X$		$f_X$ 芳香族系统	
	芳香族系统	脂肪族系统	Rekker	Leo-Hansch
CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> —		1.20		
$n$ -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> —	1.50	1.50		
$i$ -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> —	1.30	1.30		
$n$ -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> —	2.00	2.00		
$s$ -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> —	1.80	1.80		
$t$ -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> —	1.68	1.68		
cyclo-C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> —		1.21		
cyclo-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> —	2.14	2.14		
cyclo-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> —	2.51	2.51		
金刚烷基	3.30			
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> —	2.13	2.13	1.89	1.90
—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	1.04			
—(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	1.39			
—(CH) <sub>4</sub> —	1.24			
—CF <sub>3</sub>	1.07		1.25	1.11
—CH <sub>2</sub> OH	-1.03	-0.66		
—CH <sub>2</sub> COOH	-0.72	-0.76		
—COOH	-0.32	-1.26	0.00	-0.03
—COO <sup>-</sup>	-4.36			
—CONH <sub>2</sub>	-1.49	-1.71	-1.13	-1.26
—COOCH <sub>3</sub>	-0.01	-0.27		
—COCH <sub>3</sub>	-0.55	-0.71		
—CN	-0.57	-0.84	-0.23	-0.34
—OH	-0.67	-1.16	-0.36	-0.44
—OCH <sub>3</sub>	-0.02	-0.47		
—OCH <sub>2</sub> COOH	-0.86			
—OCOCH <sub>3</sub>	-0.64	-0.91		
—CH=NNHCONH <sub>2</sub>	-0.85			
CH=NNHCSNH <sub>2</sub>	-0.27			
—O- $\beta$ -葡萄糖	-2.84			
—NH <sub>2</sub>	-1.23	-1.19	-0.90	-1.00
—N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-0.18	-0.32		
—NO	-0.12			
—NO <sub>2</sub>	-0.28	-0.82	-0.09	-0.03
—NHCOCH <sub>3</sub>	-0.97			
—NHCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-0.72			
—N=NC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-1.69			
—NHCONH <sub>2</sub>	-1.01			
—N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> <sup>+</sup>	-5.96			
—N <sub>3</sub>	0.46			
—SH	0.39	0.28	0.62	0.62
—SCH <sub>3</sub>	0.62			
—SCF <sub>3</sub>	1.44			
—SCCl <sub>3</sub>	1.65			
—SO <sub>2</sub>				-2.17
—SO <sub>2</sub> F				0.30
—SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-1.26			
—SO <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	0.55			
—SF <sub>5</sub>	1.55			
—SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-1.82			-1.59

F

## F

5.2 Rekker 碎片常数  $f$ 

计算  $\log P$  值的碎片法由 Rekker 及其合作者首创。通过收集测定的  $\log P$  值,他们用统计分析确定简单碎片的平均贡献,如 C、CH、CH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>、OH、NH<sub>2</sub>、CONH<sub>2</sub>、OCH<sub>3</sub>COOH 等(表 2)。他们发现当两个极性基团之间只有一个或两个烷基碳原子隔开时,进行校正是很必要的。他们假定:

$$\log P = \sum a_n f_n + \sum b_m F_m \quad (22)$$

式中:  $a$  为出现  $n$  型碎片  $f$  的数目;  $b$  为出现  $m$  型校正因子  $F$  的数目。

5.3 Leo-Hansch  $f$  常数

Leo 和 Hansch 采用构造法(合成法),先仔细测量 H<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub> 这些简单结构的  $\log P$  值,然后得到独立的一套碎片常数。表 2 中的两栏显示两组值有轻微不同。不同的  $\pi$  值和  $f$  值应该用于脂肪族系统。

值得注意的是,尽管  $\pi_H$  为 0,根据 Rekker 法  $f_H$  为 0.18,而根据 Leo-Hansch 法  $f_H$  为 0.23。用碎片法计算  $\log P$  值已经由 Hansch-Leo 研究小组计算机化了。在这个 CLOGP 程序中,所有已知的校正因子组合起来。任何化合物的结构都可以由一个叫做 SMILES 的线性符号输入,并通过一个次级的检索运算法则 GENIE,根据式(22)来计算  $\log P$  值。SMILES 程序包括所有异构现象。

## 5.4 其他方法

其他报道的估算分配系数的方法包括:用分子表面积和体积来预测溶解性和去溶剂化的自由能,以及基于分配系数数据的主要组分分析的应用。Suzuki 和 Kudo 的 CHEMICAL (combined handling of estimation methods intended for completed automated  $\log P$  calculation),以及由 Bodor 等引入的多描述符高度非线性回归模型也有应用。其中使用一条 10 个参数(15 项)的方程校正 118 个复杂程度不同的化合物的  $\log P$  值(所有描述符产生于 AM1 计算,并且和分子表面积、偶极矩值以及分子的电荷密度相关)。有的项达到  $10^4$  和  $10^2$  幂,以达到最好的拟合。很难解释这种高度复杂的多项式方程的物理意义。

几位这个领域的专家认为对  $\log P$  进行无缺陷计算的最终目标还没有完全实现,特别是当处理一个带有新功能团的高度复杂结构时尤其如此。

## 物理因素对 $\log P$ 或 $\pi$ 的贡献: 体积和范德华力、偶极相互作用和氢键

过去的 25 年里,人们付出了相当多的努力来描述分配系数的基本特征( $\log P$  或  $\pi$ )。结果,  $\log P$  (或  $\pi$ ) 与其他结构描述参数和物理化学参数的相互关系为许多不同的研究者所报道。例如, Moriguchi 等将  $\log P$  分割为两个本质的组分,即分子体积和极性效应,并表明非极性分子的分

配系数是分子体积的线性函数。对极性分子来说,在评价  $\log P$  时,应该考虑加入极性基团效应作为校正项。Kamlet 等将  $\log P$  和溶剂化显色参数  $\pi^*$  和  $\beta$  联系起来,它们是用来估算纯溶剂的偶极和氢键受体能力以及相应溶质特性的。

Franke 等研究了溶剂中疏水性和结构的依赖性,结果表明  $\log P$  依赖于溶质体积、极性以及氢键作用。Ou 等研究了各种化合物  $\log P$  和相对分子质量 ( $\log M_w$ )、偶极矩 ( $\mu$ ) 和氢键形成能力 ( $HB_2$ ) 的定量关系。对于 282 个化合物中的 222 个,  $\log P$  和这三个参数具有相关性,相关系数为 0.938,标准偏差为 0.492:

$$\log P = 5.841 \log M_w - 0.36\mu - 0.77HB_2 - 8.86 \quad (23)$$

$n=222$ ,  $r=0.938$ ,  $s=0.492$ ,  $HB_2$  为氢键基团的自由能变总量。

Yang 等以一种相似的方式,报道了一个广泛适用于非极性和极性取代基的通用公式(只有少数几个显著的例外):

$$\pi = +aM_w(\text{或 } vW) - bHB - c\mu + d \quad (24)$$

式中:  $vW$  为范德华体积;  $HB$  可能是一个基团中有能力形成氢键的原子的数目 ( $HB_1$ ) 或  $HB_1 \times$  能量 ( $HB_2$ )。

这个通用模型已被扩展到双取代芳香化合物的  $\log P$  和四环素衍生物的溶解性。

## 应用

## 1) 提取

在有机和分析实验室,将化合物由一种溶剂提取至另一种溶剂中是一种非常普遍的操作。用少量体积多次提取的方法更有效也是普通常识。这一点由式(1)、式(25)至式(27)可见,假定两种溶剂完全不相溶(如 H<sub>2</sub>O-CCl<sub>4</sub>):

$$P = (W_o/V_o) / [(W - W_o)/V_{aq}] \quad (25)$$

或

$$W_o = WPV_o / (PV_o + V_{aq}) \quad (26)$$

$n$  次提取后:

$$W_n = W[PV_o / (PV_o + V_{aq})]^n \quad (27)$$

式中:  $W$  为水相质量;  $V$  为体积。

如果溶剂部分互溶(如乙醚-水),则此公式只能提供近似值,但这对实践来说依然有用。

## 2) 油水系统的保存

许多药物制剂包含油-水系统,如乳剂、膏剂或混悬液,易于被微生物污染。在这些两相系统中,细菌通常生长在水相或油-水界面。为了确保这些制剂的有效期,常加入安息香酸和其他有机酸作为防腐剂。由于细菌细胞膜是亲脂性的,所以酸性防腐剂的抑菌能力几乎完全取决于未解离酸而不是离子形式。对分配系数和解离度的透彻理解可以使我们对水相中未解离酸浓度进行准确计算,它们的浓度是抑菌浓度。

## 3) 定量构效关系 (QSAR)

自从 Hansch 等的早期工作之后,有很多关于化学结构

和生物活性定量关系的例子报道。QSAR 的成功很大程度上在于分配系数 ( $\log P$  或  $\pi$ ) 在扩展线性自由能关系 (LFER) 上的应用, 这种扩展从同质的有机化学系统 (如 Hammett-Taft 法) 到被划分为异质的生物系统。

对分配系数物理本性的进一步研究揭示出它是一个依赖于大小、形状、偶极矩和氢键能力的一个复合特性。尽管许多研究者尝试用其他简单的参数来代替  $\log P$ , 但只对部分而非全分子获得了有限的成功。对全新复杂分子来说, 还是有必要测量分配系数, 并用传统的摇瓶法进行验证的。

#### 4) 肽和两性电解质的分配系数

自从本书第一版出版以来, 对有或没有可电离的侧链的 2~5 肽的  $\log P'$  值的实验测定取得了重大进展。计算大分子肽和蛋白质的  $\log P'$  值还要做更多的工作。Testa 小组使用电势-pH 表示法来表示离子分配图表并分析两性化合物的亲脂性曲线。他们还写了一篇有关亲脂性各种计算进展的综述, 引用了 223 篇相关文献。

由于每天都有越来越多的新化合物被合成出来, 所以对每个新结构进行分配系数的实验测定是不可行的。根据 Leo 和 Hansch 的估计, 测定在辛醇水中的  $\log P$  的每年增长速度为 1200 个。当一个相似的同类化合物的  $\log P$  已知时, 可以根据  $\Sigma \pi$  法较容易地计算出结构相似的新衍生物的  $\log P$  值。另外, 对于大量不同结构来说, 基于 Leo-Hansch  $f$  常数的 CLOGP 方法能相当有效地获得计算的  $\log P$  值。这个小组已经在 9000 个化合物的  $\log P$  测量值和  $\log P$  计算值之间获得较满意的相关性 ( $r^2=0.98$ ,  $s=0.21$ )。不管使用何种方法, 还是需要测定一些模型化合物的  $\log P$  值, 用来进行比较。在理论值和实验值出现较大偏差时进行的多次细致研究, 有可能揭示分子内和分子间的相互作用, 能对溶质在互相饱和和不能混溶两相中分配这一现象有更好的理解。

Rekker 碎片常数  $f$  的最初进展促进了系统的 CLOGP 方法的发展。Rekker 进一步比较了分配过程模型和一个球通过“砖墙”的通道来解释经常观察到的“不可思议的数字”。这个模型没有考虑无论正辛醇还是水相都不是由均匀整齐的“砖”组成的, 就像他在图表中描述的那样。现在还缺乏有力的理论方法来计算复杂的新结构的  $\log P$ 。因此, 还会继续使用半经验的方法和实验方法。

对 QSAR 分析来说, 可电离化合物的分布系数 ( $D$ ) 已经为很多研究者使用。从  $D$  的数学公式就可以看出, 它和表观分布系数 ( $P'$ ) 是相同的, 并且可以比较容易地转化为真实 (或校正) 分配系数  $P$ :

$$D = [\text{HA}]_o / ([\text{HA}]_w + [\text{A}^-]_w) \quad (28)$$

$$P' = [\text{HA}]_o / ([\text{HA}]_w + [\text{A}^-]_w) \quad (29)$$

$$D/(1-\alpha) = [\text{HA}]_o / [\text{HA}]_w = P \quad (30)$$

如果在 QSAR 分析中只有有限的数据点可以获得,  $\log P'$  ( $\log D$ ) 可以用来解释不同的解离度和亲脂性。另外, 如果可以获得足够量的数据点 (每个检验的参数多于 5

个数据点), 使用 [未解离]/[解离] 的对数值  $\log(U/D)$  (对于酸,  $=\text{p}K_a - \text{pH}$ , 对于碱  $=\text{pH} - \text{p}K_a$ ) 作为一个除  $\log P$  外的独立变量是很有利的。这可以将电离效应和相对亲脂性效应分离开来。

Avdeef 最近报道了多质子物质基于通用的、权重的、非线性最小平方程序和 pH 滴定曲线的分配系数和解离常数的微调。这个方法能测定电离常数相当接近的多质子物质的  $\text{p}K_a$  和  $\log P$ 。

有人开发了一个 Prolog P 程序来估计可电离化合物的分布系数 ( $\log D$ ), 它是基于 LFER 来源的微观解离常数的。也有报道几个使用原子/碎片加和法原理和校正因子来计算辛醇-水分配系数的方法 (如  $\log \text{KOW}$ 、 $X \log P$ )。Clarke 等报道说, 对于可电离化合物来说, 通过在双相电势滴定中使用两个不同辛醇体积,  $\text{p}K_a$  和分配系数都可以通过曲线拟合来获得。

#### 参考书目

- Akamatsu, M.; Fujita, T. Quantitative Analyses of Hydrophobicity of Di- to Pentapeptides Having Unionizable Side Chains with Substituent and Structural Parameters. *J. Pharm. Sci.* 1992, 81, 164-174.
- Akamatsu, M.; Katayama, T.; Kishimoto, D.; Kurokawa, Y.; Shibata, H.; Ueno, T.; Fujita, T. Quantitative Analysis of the Structure-Hydrophobicity Relationship for N-Acetyl Di- and Tripeptide Amides. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83, 1026-1033.
- Carrupt, P. A.; Testa, B.; Gaillard, P. Computational Approaches to Lipophilicity: Method and Applications. *Reviews in Computational Chemistry*; Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Ed.; Wiley & Sons, Inc.: New York, 1997; 11, 241-315.
- Clarke, F. H.; Cahoon, N. M. Partition Coefficients by Curve Fitting: The Use of Two Different Octanol Volumes in a Dual-Phase Potentiometric Titration. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85, 178-183.
- Csizmadia, F.; Tsantili-Kakoulidou, A.; Pander, I.; Darvas, F. Prediction of Distribution Coefficient from Structure. I. Estimation Method. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86, 865-871.
- Dearden, J. C.; Bresnen, G. M. The Measurement of Partition Coefficients. *Quant. Struct.-Act. Relat.* 1988, 7, 133-144.
- Gao, H.; Wang, F. Z.; Lien, E. J. Hydrophobic Contribution Constants of Amino Acid Residues to the Hydrophobicities of Oligopeptides. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1279-1283.
- Gao, H.; Lien, E. J.; Wang, F. Z. Hydrophobicity of Oligopeptides Having Un-Ionizable Side Chains. *J. Drug Target* 1993, 1, 59-66.
- Hansch, C.; Leo, A.; Hoekman, D. Exploring QSAR; Hy-

- drophobic, Electronic, and Steric Constants; American Chemical Society; Washington, DC, 1995; 1-348.
- Hansch, C.; Leo, A. Exploring QSAR; Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology; American Chemical Society; Washington, DC, 1995; 1-557.
- Lien, E. J.; Ren, S. J. QSAR and Molecular Modeling of Bioactive Phytophenolics. Phytochemicals as Bioactive Agents; Bidlack, W. R., Omaye, S. T., Meskin, M. S., Topham, D. K. W., Ed.; Chapter 2, Technomic Publishing Co.; Lancaster, PA, 2000; 21-41.
- Lien, E. J. Partition Coefficients. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed. Swarbrick, J., Boylan, J. C., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1994; 11, 293-307.
- Meylan, W. M.; Howard, P. H. Atom/Fragment Contribution Method for Estimating Octanol-Water Partition Coefficients. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 83-92.
- Pagliara, A.; Carrupt, P. A.; Caron, G.; Gaillard, P.; Testa, B. Lipophilicity Profiles of Ampholytes. Chem. Rev. 1997, 97, 3385-3400.
- Palekar, D.; Shiue, M.; Lien, E. J. Correlation of Physicochemical Parameters to the Hydrophobic Contribution Constants of Amino Acid Residues in Small Peptides. Pharm. Res. 1996, 13, 1191-1195.
- Reymond, F.; Steyaert, G.; Carrupt, P. A.; Testa, B.; Girault, H. Ionic Partition Diagrams; A Potential-pH Representation. J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 11951-11957.
- Tsantili-Kakoulidou, A.; Panderi, I.; Csizmadia, F.; Darvas, F. Prediction of Distribution Coefficient from Structure. II. Validation of Prolog D, An Expert System. J. Pharm. Sci. 1997, 86, 1173-1179.
- Wang, R.; Fu, Y.; Lai, L. A. A New Atom-Additive Method for Calculating Partition Coefficients. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1997, 37, 615-621.
- Waterbeemd, H. V. D.; Mannhold, R. Programs and Methods for Calculation of Log P-Values. Quant. Struct.-Act. Relat. 1996, 15, 410-412.

(周晓通 译)

# 分析方法的验证

Joachim Ermer

Aventis Pharma, Frankfurt am Main, Germany

John S. Landy

Aventis Pharma, Bridgewater, New Jersey, U.S.A.

## 引言

在药学界,分析方法的验证是指证明一个方法是否具有能完成其预期检测能力的过程,也就是说,通过实验研究证明一个测定方法可以准确评价原料、赋形剂或制剂的鉴别、含量和(或)质量测定的结果。为了统一标准,国际协调会议(ICH)<sup>①</sup>规定了所有新药出厂检验和稳定性试验方法验证的过程。本章解释了 ICH 的有关条款和要求<sup>[2,3]</sup>,并且对如何进行合理高效的验证提供了指导。

规范的方法可以是药典方法,也可以是非药典方法,但只要有可能,ICH 会选用一些诸如官方的药典方法等成文的方法。药典的方法往往被认为是有效的,但是一定要证明其在实际条件下的适用性。非药典的方法需要验证,只有在没有药典方法的情况下才会被选用。当然,只要证明一个非药典的方法优于药典方法,也可以选择前者而弃后者。

在将一个产品的资料送往有关机构进行审批之前,分析实验室应对该产品的毒理、临床、稳定性、开发、放大、优化、工艺和清洁的研究结果进行验证。任何一项研究中出现的不可靠数据都有可能成为审批速度减慢和未被批准的潜在因素。方法的“生命周期”<sup>[9]</sup>是与药品的开发阶段一致的。在研发早期(临床前),原料和制剂的相关测定只需要做一些基本的验证以保证结果的可靠性,而在产品最后的开发和商品化阶段则最终发展为一个完整的方法验证包(见“药品开发和制造过程中的验证”)。随着方法的移植、利用日常质量控制(QC)来监督以及再验证的开展,方法的“生命周期”即终止了。所谓再验证是指对方法进行部分调整时需要重新验证的部分,如由于色谱柱发生改变而进行的专属性验证。定期地、重复地进行整体验证是多余的,但是,连续地对分析过程的表现进行监控却是必要的(见“验证状态的维护”)。许多方法在产品开发的早期可能是专属的,但最终在常规出厂检验中还是被弃用了。众所周知,由于毒理、药效甚至市场的原因,并不是所有的药品都能被批准上市和商品化。在审批的过程中还会碰到许多其他的变化,如活性药物成分(API,药物)、合成路线、药品的处方、工艺的改变以及新发现的降解途径。所有这些都影响采用的分析方法。因此,需要对方法(开发)验

证的资源进行有效地策划,使其能够满足评价药品质量的准确度和精密度的要求。

## 1. 日常用途的方法选择和应用

当选择方法时,使用方法的实验室[研发(R&D)或QC]和方法的开发阶段及待测物与样品是同等重要的,因为这会影响准确度和精密度的要求,并影响实验室经济、环境以及人和环境的关系等。应该选择那些适合于被测物属性的方法,必须具有足够的可选择性、准确度、精密度和耐用性,并与拟订的质量标准相适应。应该注意的是,对于QC方法,精密度尤为重要。精密度高的方法应能在产品不符合质量标准规定(QOS)的情况发生之前就检测到生产过程中出现的波动。对于一个足够精密的方法,即使日后再提高质量标准,也无需对其进行修改或再验证。

另外,这些方法在设计时的一个明确目标就是可移植到的其他有资质的实验室。研发实验室确定最终资料中的测试技术、参数和其他细节,以便使方法尽可能成功地移植到QC实验室。应选择那些经验表明重现性有可能较好的方法,当然在以后的验证过程中需对重现性进行考察。所设计的方法应该尽量使直接分析和样品处理的时间最少而效率最高,并且使实验的便利性、安全性、健康和环境的影响与方法研发的主要目的相适应。开发中应该考虑接受方法的实验室的设备和技术的限制、希望的样品体积,并且应在传统的可接受的验证数据(准确度、精密度等)、分析时间和耐用性之间达成平衡。接受方法的实验室除了应对这些方法进行早期审检并为方法移植做好准备(如购买设备、获取标准品)外,还应该评估方法的安全性、有意义的系统适用性数据(来源于耐用性研究)以及方法的书写是否清楚。理想的方法是自动化的。对一个采用自动化设备开发的方法应该做出一个早期的评价,那就是与手动方法比较,考查自动化方法的准确度、精密度、重现性和耐用性。

## 2. 验证和质量标准(限度)

验证方法与原料或制剂的质量标准是紧密相关的。为了保证方法的可移植性,确保方法能够在QC成功地使用,应该了解和监测方法的波动性(根据中间精密度)。监测方

① <http://www.ifpma.org/ich5q.html> (2001年3月)

## F

法的波动性是对方法在日常使用过程中将会经历的波动的估计。较高的方法波动将增加实验失败的概率,而且使监测药物合理的波动和甚至更小的稳定性变化变得困难。方法的波动应小于平均值或目标值(典型的是质量标准上限和下限的中点)与最接近的质量标准限度间隔的1/3,或者应小于方法的质量标准中限度间隔的1/6,取两者中的较小值。否则即使为完全按目标生产的药品并且过程波动值为零,OOS的现象也可能发生。

我们应该努力抓住某些合理的机会(基于通常的信心和经验),将方法的波动性减小到质量标准限度间隔的1/4或是更小。在实际的药品生产过程中,如果质量标准的限度为95%~105%,目标值为100%,那么方法波动性的最大值应小于1.67%;然而,一旦方法波动性大于1.25%,应该努力予以降低。理想的情况是即使质量标准范围大于10%,方法的波动性也应不超过2.0%。方法波动性最大值为2.0%的要求不适用于待测产品本身的波动性与测试方法波动性相混淆的情况。

### 3. 药品经营质量管理规范的验证

虽然满足法定要求对于制药工业及其相关管理实体是极为重要的,但这显然不是开发和验证分析方法的唯一标准。精心开发和验证的方法代表了药品经营质量管理规范性,而仓促选择或随意验证的方法必将困扰公司财政。

过长周期的样品制备、有害溶剂的过度使用和排放很容易造成财政和安全的损失。不精密的稳定性数据很容易导致错误的或缩短的有效期。随意验证的方法增加了OOS发生的概率,并且相关的调查还将占用昂贵的实验室资源。不好的方法(相关质量标准的精密密度不够理想)很难将不合格产品剔除,最终将导致产品的召回。准确度不够的方法将导致产品的有效含量过低或过高。重现性差将影响方法移植的速度或效率,有可能成为报批前的限制性因素,最终影响产品的上市时间。

## 管理要求

鉴于对申报资料中出现的新分析方法证明其适用性很重要,在20世纪80年代,许多管理部门出版了不同版本的对分析验证的要求。美国食品与药品管理局(FDA)发行了两个指导原则,一个针对申请者<sup>[10]</sup>,另一个针对检查员和审评员<sup>[11]</sup>。由于第一个指导原则还要保证分析方法在FDA实验室中可以应用,因此指导原则对方法、参考材料、可能存在的有关物质等进行了详细的描述。在方法验证方面,应该提供数据证明对杂质和降解物测定制订了适当的准确度、精密密度、线性、选择性和定量限(QL)。对于药品,应提供的数据有回收率、安慰剂的不干扰试验以及由时间、实验室、操作者和色谱柱引起的波动性。

第二个指导原则重点集中在反相色谱分析法上,对于

关键性的方法学问题以及参数可以接受的结果给予了详细的论述。第一个指导原则的修改稿草案于2000年出版<sup>[12]</sup>①,重点在于提供了详细的原始数据。然而,这个指导原则未涉及对验证的要求,而验证资料中又充斥着大量数据,导致科学论证方法的适用性变得非常困难,因此建议在指导原则中增加一个相关的检查专题。此外,指导原则中还有一些与ICH文件不一致的内容,这对协调进程也是不利的。

同样的验证内容在美国药典(USP)中也有描述<sup>[13]</sup>。USP将分析方法分为三类:药品中主要成分的定量方法、杂质的测定方法和药物技术的测定方法(如溶出度)。欧盟对验证的指导原则<sup>[14]</sup>进行了概括,并穿插在申报资料的各章节中。加拿大的指导原则<sup>[15]</sup>非常详细地讨论了要求,特别是可接受的标准。虽然可接受的标准表现出一定的倾向性,但有时还不是非常明确,比如药物的中间精密密度/重现性应小于1%。

### 关于人用药品注册技术要求国际协调会议(ICH)

1990年,欧洲、美国和日本三个主要国家和地区为了避免新药申报的重复、无效和延误,对申报要求进行了协调。这是一个在主管当局和医药工业之间进行建设性对话而创立的论坛,共有六个发起人:欧洲委员会、欧洲制药工业协会联合会(EFPIA)、日本厚生省(MHW)、日本制药工业协会(JPMA)、美国食品与药品管理局(FDA)和美国药物研究和生产联合会(PhRMA),其他如加拿大卫生保健局(HPB)、美国药典(USP)和欧洲药典(EP)等一些组织以观察员的身份参加了会议。在有关质量的章节,对总共七个主题进行了探讨<sup>[1]</sup>:稳定性、验证<sup>[2,3]</sup>、杂质<sup>[4~6]</sup>、药典的协调、生物技术产品、质量标准<sup>[7,8]</sup>和药品生产质量管理规范(GMP)。

ICH对于分析验证的术语、定义<sup>[2]</sup>和基本要求<sup>[3]</sup>的协调非常有价值。当然,由于整个过程具有协调统一的性质,难免出现某些妥协和争论,但进行适当验证的重要程度现在已获得了广泛的认可和接受。表1中列出了各种不同类型分析方法中需要验证的指标。ICH对于验证指标的要求见下文概述。然而,ICH的指导原则不能视为一张检查表。“申请者的职责是为他们的产品选择最合适的验证方法和方案”<sup>[2]</sup>。

#### 1) 专属性

“专属性系指在其他成分(如杂质、降解产物、基质等)可能存在的情况下,采用的方法能明确无误地测定出待测物的能力<sup>[2]</sup>”。对于鉴别,应该通过阳性样品或阴性样品显示方法能够区分结构类似的化合物。对于含量和有关物质的测定,可在相应的基质中加入可获得的杂质/降解物或者使用降解的样品。专属性还可以通过与一个独立分析方法的结果比较来验证。总体的专属性通常是几个分析方

① <http://www.fda.gov/cd/guidance/2396dft.htm>



法的所得结果的综合, 如一个部分专属的滴定法和测定有关物质的色谱法的组合。对于色谱法的分离, 应对刚刚获得分离情况下的分离度进行测定。再如, 推荐使用二极管阵列 (DAD) 或质谱分析法 (MS) 进行峰纯度检测。所有测试包括选择的合理性均应记录在案。此外, 还应提供、讨论并且评估包括表格、色谱图等在内的全部有关结果。

## 2) 线性

“分析方法的线性是指在给定的范围内检测结果与样品中待测物的浓度 (量) 呈比例关系的能力”<sup>[2]</sup>。线性有 2 种, 即与不同稀释倍数的待测物相关的检测器/仪器的线性, 或者与包括尽可能完整的样品预处理在内的各个样品制备 (添加、称量) 相关的分析方法的线性。至少应选择涵盖整个工作范围的 5 个浓度点进行分析。除可明显观察到待测物信号与浓度相关外, 还推荐采用适当的统计学方法, 如线性回归。报告中应包括斜率和截距、总方差和相关系数等参数。

## 3) 范围

“分析方法的范围系指能达到一定的精密度、准确度和线性要求的测试方法所适用的样品中待测物 (包括浓度) 测定高限和低限的区间”<sup>[2]</sup>。

下列范围为最低范围要求:

- 含量测定: 测试浓度的 80%~120%
- 含量均匀度: 测试浓度的 70%~130%
- 溶出度: 规定范围以下 20% 至范围以上 20%
- 有关物质: 应为报告水平至标准规定的 120%
- 100% 方法 (同时进行含量测定和杂质检查, 且仅使用 100% 的对照品, 用归一法进行计算): 杂质的报告水平至标准规定含量的 120%

表 1 各种分析方法的常用验证指标和需要的最少测定次数<sup>[2,3]</sup>

验证指标	最少测定次数	分析项目			
		鉴别	有关物质		含量测定 <sup>1)</sup>
			定量	限度检查	
专属性 <sup>2)</sup>	不适用	+	+	+	+
线性	5	—	+	—	+
范围	不适用	—	+	—	+
准确度	9 (如 3X3)	—	+	—	+
精密度					
重复性	6 或 9 (如 3X3)	—	+	—	+
中间精密度/ 重现性 <sup>3)</sup>	2 系列	—	+	—	+
DL	由具体方法决定	—	— <sup>4)</sup>	+	—
QL	由具体方法决定	—	+	—	—

1) 包括溶出度、含量/效价测定。

2) 缺少专属性的分析方法可以由其他分析方法加以补充。

3) 重现性数据无需申报。

4) 在某些情况下需要。

注: + 通常需要验证; — 通常不需要验证。

## 4) 准确度

“分析方法的准确度是指用该方法所得的测定值与真实值或认可的参考值的接近程度”<sup>[2]</sup>。

验证的指标可表示为系统误差 (偏差)。准确度可用以下方法表示:

- 由精密度、线性和专属性推论
- 与另一种指标优秀的方法的测定结果比较
- 测定参比物质 (原料)
- 空白辅料添加药物的回收率 (制剂)
- 加入原料或制剂中杂质的回收率 (有关物质)

对于定量分析, 应在规定范围内至少测定 9 次, 例如, 3 个浓度水平, 每个浓度测定 3 次。应报告回收率 (%) 或测定结果平均值与真实值之差及其置信区间 (CIs)。

## 5) 精密度

“分析方法的精密度是指在规定的条件下对均匀样品多次取样检测所得结果之间的接近程度 (离散程度)。精密度可以从三个水平考虑: 重复性、中间精密度和重现性”<sup>[2]</sup>。精密度反映了测量的随机误差, 理想条件下应该由可信的样品获得。应计算每个水平的精密度, 包括标准偏差、相对标准偏差 (RSD) (变异系数) 和 CIs。重复性反映了在同样操作条件下、较短的时间间隔内 (一次测定内) 分析方法的精密度。在规定的范围内至少测定 9 次或在测定浓度的 100% 处至少测定 6 次。中间精密度指由不同分析引起的附加随机变动因素对精密度的影响, 如实验室内的变动, 包括不同日期、不同分析人员、不同设备等。重现性指实验室间的精密度, 在申报时不做要求, 但是在对分析方法进行标准化时应予以考虑。根据分析方法的用途应该选择不同的变异值。

## 6) 检测限和定量限

“某一分析方法的检测限 (DL) 是指样品中的待测物能够被检测出的最低量, 但不一定要准确定量。某一分析方法的定量限 (QL) 是指在合适的准确度和精密度下, 能够定量测定样品中的待测物的最低量”<sup>[2]</sup>。

可采用各种不同的方法进行测定:

- 目视判断
- 根据信噪比计算 (DL 和 QL 分别为噪声的 3 或 2 和 10 倍)
- 根据空白样品的标准偏差计算 [式 (1)]
- 通过校正曲线的低浓度计算 [式 (1)]

$$DL; QL = \frac{F \times SD}{b} \quad (1)$$

式中:  $F$  是系数 3.3 (DL) 或 10 (QL);  $SD$  是空白样品的标准偏差、纵坐标截距的标准偏差或线性回归的剩余标准偏差;  $b$  是回归曲线的斜率。

估计的限度应该通过分析一定数量含有相应浓度待测物的样品来核实。应报告 DL 或 QL 及其测定方法和有关的

色谱图。

## 7) 耐用性

“分析方法的耐用性是指方法参数发生细微但是有意的改变时测定保持不受影响的能力,可反映正常使用时分析方法的可靠性”<sup>[2]</sup>。在分析方法的开发阶段,应考察易受影响的参数,如待测溶液的稳定性、提取时间、流动相的 pH 和组成、色谱柱批号和供应商、温度和流速等。耐用性研究中提倡使用因数设计。

## 8) 系统适用性试验

“系统适用性试验是许多分析方法的必要组成……”<sup>[3]</sup>。应根据分析方法的类型选择适当的参数,具体可参考各药典。

# 合理有效的验证

由于分析方法的应用贯穿了药品开发、原料和制剂的生产和放行,其结果的可靠性是至关重要的。许多重大的决定都基于分析的结果,例如,根据稳定性研究结果制订有效期,当新的杂质出现或已知杂质超过限度时判断是否需要增加毒理学试验,以及决定每批样品是重做、放行或拒绝放行等。因此,一个适当的、能够证明分析方法性能和适用性的验证远比一个形式上的要求重要得多。

## 1. 分析方法的适用性

“适用于其预期目的”意味着什么?从根本上讲,适用性是由质量标准的限度(或分析研究的目标)和测试项目的设计决定的,有些在 ICH 指导原则中已有明确规定。例如,原料中未知杂质的报告水平定为 0.05% 或 0.03%<sup>[4]</sup>,那么相应的测定方法应该能够以适当的精密度和准确度定量测定这个浓度水平的杂质。由分析波动性和生产波动性的 CI 概念<sup>[17]</sup>可知,分析方法波动性的最大允许值可以从质量标准的限度计算出<sup>[16]</sup> [图 1, 公式 (2)],至少应该证明质量标准的限度与分析的波动性之间的兼容性。在理想的情况下,限度的制订应以分析的波动性和生产的波动性作为参考<sup>[17]</sup>。此时,通常将某一种特定分析方法(分析技术的情况)预计的分析波动值作为判断依据。当然,如此获得的限度一定首先要满足基本质量和安全的要求。如果这一情况令人满意,限度能够反映分析的波动性<sup>[7,8]</sup>。对于含量测定,分析方法的波动性经常大于生产的波动性。

$$S_{\max} = \frac{(BL - SL)}{t_{n-1, 0.95}} \sqrt{n} \quad (2)$$

式中:BL 为基本限度,由理论含量和生产波动性获得,可参考质量标准范围上下限的“一半”;SL 为质量标准总体限度,可参考质量标准范围上下限的“一半”; $n$  为含量测定的重复次数; $t$  为自由度,等于  $n-1$ ,指统计学置信度(单侧)等于 95% 时的  $t$  检验临界值。

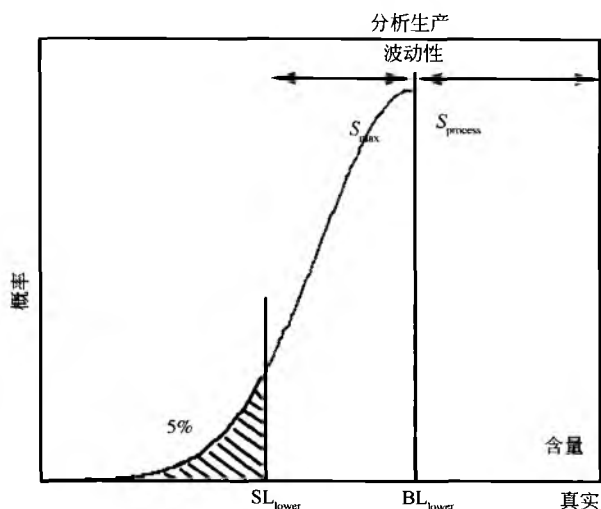


图 1 由实验结果概率分布的 95%CI 得到的质量标准限度的结构图<sup>[16]</sup>。本结构图显示了下限的情况。BL=基本限度,反映了生产过程的波动性。SL=质量标准的总体限度,为 BL 和分析波动性单侧 95%CI 的(下)限的结合

所设计的分析方法必须被证明是适用的,包括校正方式、重复测定的次数等是适合的。因此,适用性与每一个分析方法的制订密切相关。每个性能指标的重要性各不相同,也就具有不同的认可标准,因此应避免使用一张类似于“检查表”的东西来完成验证。分析人员必须明确每个分析方法的哪些性能指标是重要的,从而为实验的设计和结果制订认可标准提供依据。

由于通常得到的数据较少,应慎用统计学检验为认可标准。有时,因为分析样本的波动性特别小,所得的显著性差异的结论没有实际意义<sup>[18]</sup>。除此之外,当为了论证准确度而比较不同方法的时候,不同的专属性很可能会增加系统偏差,从而增加了结论无实际意义的危险。分析人员一定要判断检测到的统计学意义上的显著性差异是否具有实际应用价值。另外,大的波动性也可能掩盖本应拒绝的差异。如果使用了验证软件,该软件应具有足够的灵活性以防止上述问题的发生<sup>[19]</sup>①。

尽管适用性不是优化一个分析方法的最终目标,分析技术的情况也应该成为考虑的因素。判断一批产品是否放行依赖于彼此补充和完善的一整套分析方法,认识到这一点也是非常重要的。因此在设计质量标准时<sup>[7,8]</sup>,方法的选择对于各个控制试验要求的性能,及其验证具有相当大的影响。

## 2. 验证指标

### 2.1 专属性

关于这个验证指标的技术术语是专属性还是选择性已

① <http://www.novia.de>.

有一些争论<sup>[20]</sup>。与分析化学的相对独立的测试方法相比, 药物分析是各种质控测试的总和以及由其结合而成的专属性质在整个认证中的应用。

尽管有着各种各样的意见, 但有一点得到了公认, 那就是这个验证指标是至关重要的, 而且是每个分析方法的基础。由于不存在绝对的和定量的测量值 (至少对于整体专属性), 因为对其的要求主要依赖各个分析方法及其与其他分析方法的组合。

色谱法的分离: 在色谱技术中, 专属性表现在可出峰物质的充分分离。对于含量测定, 合适的分离意味着待测物与其他峰 (如杂质、空白或基质组成) 的完全分离, 而后者内部并不要求彼此分离。相反, 通用的杂质测定方法要求所有的有关杂质必须充分分离, 而要求的分离度取决于相应峰的大小及其洗脱顺序<sup>[21]</sup>。因此, 一旦决定了分离度, 杂质的典型浓度水平或质量标准限度 (以最差的情况计) 就应该是不变的。分离度可分别根据 EP [式 (3)] 和 USP [式 (4)] 以半峰宽和基线宽计算得到, 适用于基线分离的色谱峰, 但 USP 方法对拖尾峰的适用性较差, 测定时需综合性考虑。

$$R_s = \frac{1.18 (t_{Rb} - t_{Ra})}{w_{0.5a} + w_{0.5b}} \quad (3)$$

$$R_s = \frac{2 (t_{Rb} - t_{Ra})}{w_a + w_b} \quad (4)$$

式中:  $t_{Ra}$  和  $t_{Rb}$  分别为峰 a 和 b 的保留时间, 并且  $t_{Rb} > t_{Ra}$ ;  $w_{0.5a}$  和  $w_{0.5b}$  分别为峰 a 和 b 的半峰宽,  $w_a$  和  $w_b$  分别为峰 a 和 b 在基线的峰宽。

对于未完全分离的峰, 尤其是峰的大小不同时, 不能根据公式 (3) 和公式 (4) 计算分离度, 因为色谱峰的叠加会造成很大误差。此时, 应该使用其他分离参数, 如峰谷比 ( $p/v$ )<sup>[23]</sup>。该方法测定的是基线延长线到两峰间峰谷的距离与较小 (杂质) 峰高的比值 (图 2), 与峰的积分直接相关, 而不受拖尾或主峰洗脱后区域中出现的“拖尾效应”的影响<sup>[22, 23]</sup>。

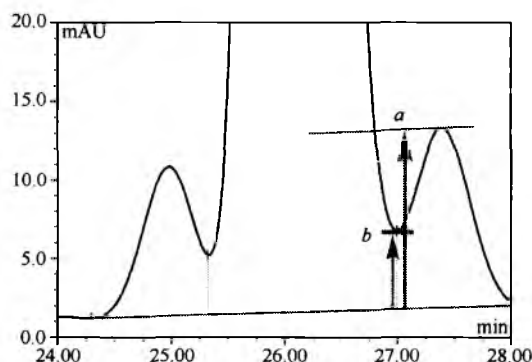


图 2 峰分离指标: 峰谷比  $p/v = a/b$ 。如果计算被修改为  $p/v = 1 - b/a$ , 则参数被归一化, 其作用与分离度一致, 也就是数值越大说明分离越好, 其最大值为 1

除了采用“物理的”方法提高分离度外, 如果未分离峰的光谱不同, 还可以进行“视觉上”的优化, 如通过选

择适当的测定波长来减弱两峰的相互干扰。然而, 如果选择的波长不在一个稳定的区域, 如在光谱的相对极大值、极小值或肩峰处, 那么还要权衡这样做是否会影响方法的 QL 或定量的耐用性。

纯度检查: 为了检测未知物质是否能同时被洗脱, 应进行峰同质性 (也称峰纯度) 检查。

对于浓度相差不是很大的共洗脱峰, 用一维空间检查这样简单的方法就可以进行峰纯度检查了。正常洗脱的纯净的物质其半峰宽与保留时间呈比例。因此, 在等度色谱中通过调节有机相的不同比例, 纯物质的峰其半峰宽与保留时间将呈线性关系。在单一色谱分离时, 对称因子与纯净物质的峰高无关<sup>[24]</sup>。

在处理少量的共洗脱杂质峰时, 对于可疑的峰重新选择色谱方法进行分析是更为简便、有效的, 实际应用也较广。应用的两种色谱方法差异越大, 所获得的检查结果越能说明问题。可以考虑各种组合, 如反相 (RP) 色谱分析方法与另一种 RP 方法 (不同的洗脱液、pH 和色谱柱)、排阻色谱法、离子色谱法、薄层色谱分析法 (TLC) 和毛细管电泳法 (CE)<sup>[25]</sup>、或气相色谱法 (GC) 等的组合。重新选择色谱方法可以对被分离峰的组分进行离线分析, 也可以直接将两个方法组合分析。当对被分离峰的组分进行分析时, 应该注意避免降解导致的待测物变化。

用二极管阵列检测器或能够扫描的检测器可以检查色谱峰的光谱纯度<sup>[26]</sup>。但是, 该方法对共洗脱物质的光谱图和保留时间的要求均不相同。如果以上条件满足并且两者浓度相差不是很大 [图 3 (b)], 商业用的软件可以很容易地检测出其不纯度。然而, 对于含量小于 1% 的杂质, 软件就难以辨别了 [图 3 (c)]。

峰纯度检查中最具识别能力的技术是质谱法<sup>[27, 28]</sup>。使用在线的 LC-MS 联用技术, 质谱可用于监控可疑峰洗脱的整个过程 [图 4]。首先, 在获得的信号 (质荷比,  $m/z$ ) 中应对主要物质进行归类。在这个例子中,  $m/z$  为 275.8 和 295.6 属于原料药 [图 4 (b)], 表现为带 2 个电荷的分子离子峰和带 2 个电荷的分子离子加乙腈 (来自洗脱液) 峰。如果继续进行光谱图的“滚动”, 可以发现  $m/z$  为 324.9 [图 4 (a)] 的物质, 相应的质谱图被提取出来。根据紫外检测器获得的色谱峰, 不同的保留时间或洗脱行为证明色谱峰中存在着共同洗脱的杂质。即使色谱峰保留时间相同, 如果质荷比出现变化而从原料本身又无法解释其原因, 也可以怀疑杂质的存在。在这个例子中, 杂质量为 0.5%。当然, 每个物质的 DL 依赖于待测物质各自的 MS 响应 (原文如此), 而且, 非对映异构体无法鉴别。如果用 LC 方法验证时选择了非挥发性的缓冲液, 分离得到的色谱峰组分可以在重新进行色谱分离时考虑采用 MS 法。此外, 还可以选择在线的联用技术<sup>[29]</sup>。尽管在常规的 (药物) 分析中不常用到, 但 MS 检测法在效率和可靠性方面的优势还是不容忽视的, 如 (在大多数情况下) 可排除干扰的高专属性的检测以及对于杂质的监测和鉴别<sup>[28]</sup>。

强力破坏试验样品能证明适当的分离效率, 但应该注

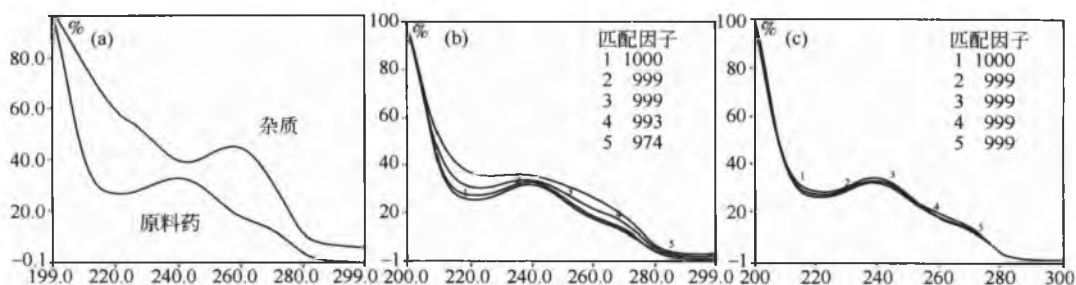


图3 二极管阵列检测器检查色谱峰的纯度。(a) 原料药和杂质的光谱图；(b) 含有约10%杂质的共洗脱混合物；(c) 含有约0.5%杂质的共洗脱混合物。光谱图分别于色谱峰的最大值、峰两边约5%和约50%处获得。使用商业软件对于峰前第一个光谱图进行归一化（匹配因子为1000表示光谱图相同）

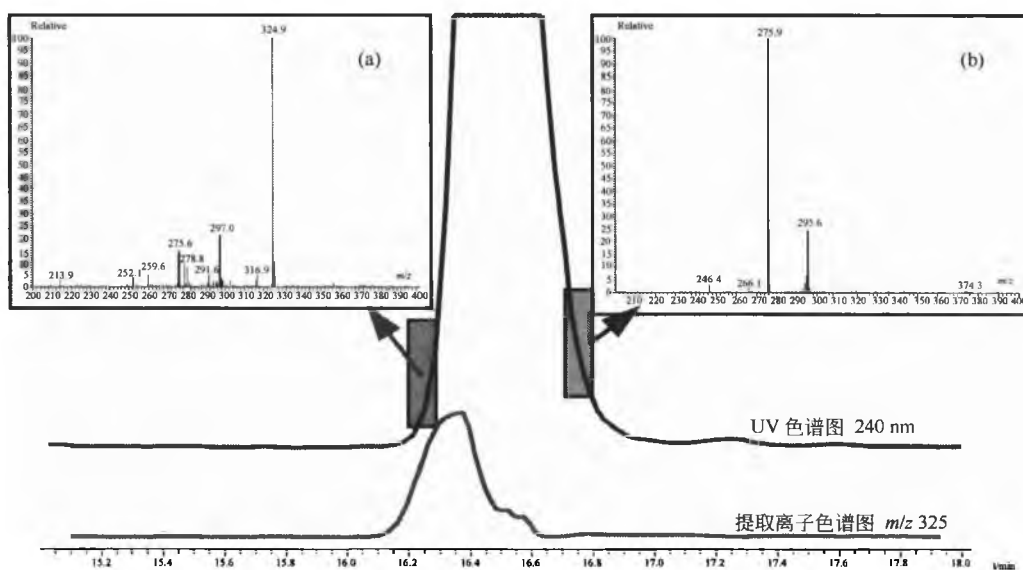


图4 LC-MS 检查色谱峰的纯度。上、下两个色谱图分别为240nm波长处紫外检测色谱图和质荷比( $m/z$ )325的选择离子色谱图。(a)和(b)显示了(两个)在紫外峰不同保留时间区域的质谱图。杂质峰在优化的色谱条件下得到分离,在240nm波长处检测时占总峰面积的0.5% (数据未列出)

意避免过度的降解以防发生没有实际意义的第二级的(或者甚至更高级的)降解。因此,降解应该被控制在10%左右。另外,也可以选用常规稳定性研究(加速的储藏条件下)的样品。

## 2.2 线性和范围

虽然在大部分药物分析方法中待测物浓度与测得信号之间呈线性关系,但也有例外,如TLC和荧光测定。因此,使用术语“分析的响应”将更为确切。

校正的先决条件:校正的先决条件取决于分析的目的,即何种回归参数是有意义的,什么结果是可接受的。换句话说,用于定量的模型应被证明是合适的。对于单点校正(外标法),要求函数为线性、截距为零而且方差均匀。而一个线性多点校正的先决条件就是一个线性函数,如果是不带权重的校正还需要方差是均匀的。一个非线性校正仅需要一个连续的函数。对于100%方法(杂质的面积归一化

法),要求主峰和杂质峰在各自范围内均为一个线性函数并且截距为零。

要求的线性范围必须从分析方法的工作范围中获得。当应用在单点校正时,为了避免过分外推到零点,外推到最小浓度的规定可能是很有用的。当然这种做法会给截距的意义评价带来一些问题。当对一个复杂介质(如外标法测定制剂、杂质和降解物时)或者复方制剂中的待测物进行校正时,如果打算使用单一对照标准溶液,那么应将其线性与使用加入空白样品获得的整个方法的线性进行比较。

在整个范围内方差的均匀性(方差齐性)是不带权重的线性回归的一个首要条件,可以确保所有的浓度具有相同的影响力(图5)。这可以通过在线性范围的最小值和最大值处重复测定6~10次并将得到的方差进行F检验来证实。然而,由于用在药物分析中的浓度范围通常不是很大,一般不需要单独试验测定其方差的均匀性。总体上,只有当使用紫外吸收(在检测器/仪器的线性范围内)测定的响

应超过约两个数量级时,才会考虑方差齐性试验。当一个校正超过几个数量级时(对于生物分析更为常见,但有时也用于杂质的测定),方差是不太可能均匀的。由于一个不含权重的线性回归在回归时要求绝对剩余平方之和最小,因此较高的浓度具有较大的绝对离散性,也就势必占支配地位[图5(a)],在回归中将更接近曲线。其结果就是当

该回归曲线用于较小浓度样品的定量时,会产生较大的偏差[图5(b)]。为了使较低的浓度具有较高的代表性,必须对其信号添加一定的权重进行加权的线性回归。每个标准偏差或方差的倒数或者每个浓度本身或平方的倒数的近似值均可作为权重因子。在一些统计学教科书或有关的软件产品中都有计算公式。

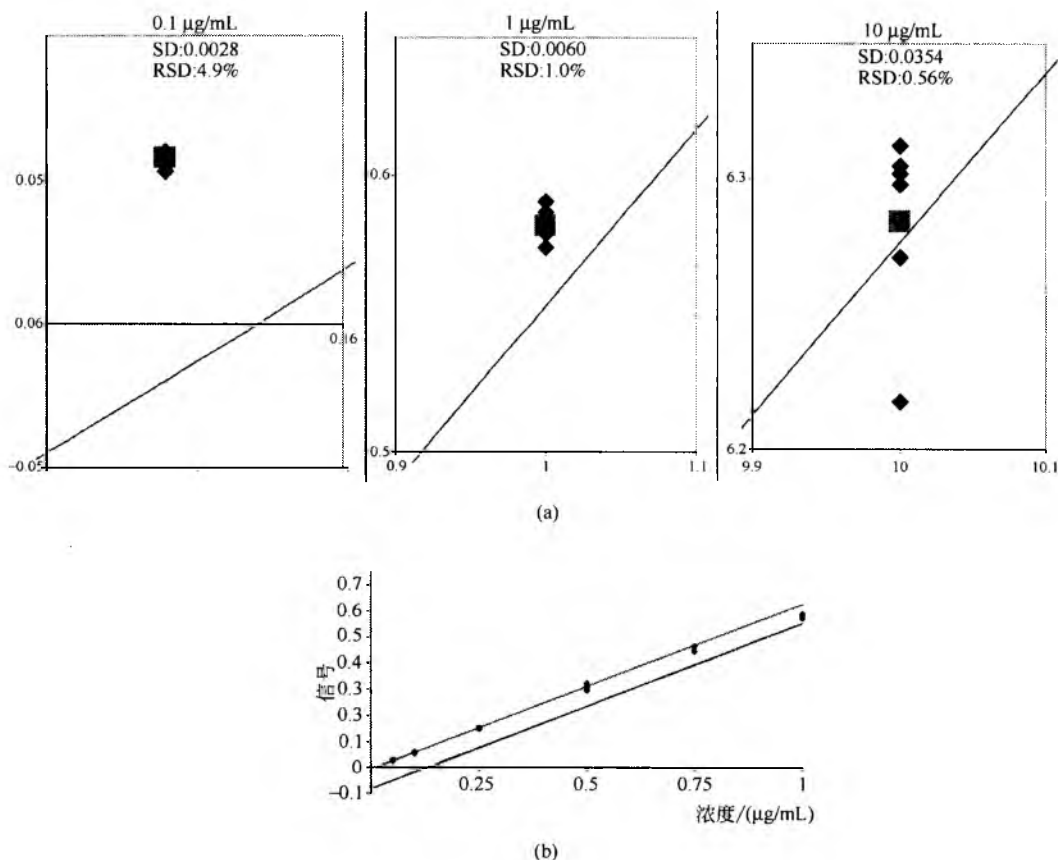


图5 方差对被测物浓度的依赖性(a)及其对回归直线的影响(b)。(a)带有分散参数的三个浓度水平,每个参数由6次测定计算得到。代表信号的纵坐标具有相同的标尺。尽管跨度达3个数量级的浓度其绝对标准差减少了大约14倍,但是RSD是显著增加的。对0.05~100mg/mL的实验数据采用不含权重的线性回归直线。(b)为0.05~100mg/mL的回归直线,分别采用带权重的线性回归(上方)的直线,权重因子为 $1/x$ ,和不含权重的线性回归(下方)的直线。图中显示的是较低浓度范围的直线

如果来自线性的偏差被检测到或是已知的,则应采用非线性响应函数,如二次回归。然而,使用这些模型应尽量小心,因为一般的分析方法都假定是呈线性关系的。此外,由于回归曲线具有更大的可变性,该回归也有可能满足错误的实验值。根据Ockham的刀片原理,模型应尽可能简单。即使在有些情况下函数本身是非线性的响应,只要在要求的工作范围内所得的偏差是可接受的,仍可采用线性回归进行研究。在图6中,待测物为400~700ng时(代表多点线性校正)分别采用二次回归和线性回归计算,结果的差异分别为范围上限和下限的0.4%和0.55%,方法的精密度约为2%。

对线性的评估:ICH指导原则中,对如何评估线性提及很少。首先,定性的论述足以评价线性(线性的方程):

在要求的工作范围内是否存在线性的关系?当进行单点校正时,一个肯定的答案就足够了(包括截距为零),因为验证过程中得到的参数在常规检验中不再需要。在药物分析中,此法对于多点校正同样适用。但是,有可能需要选择一些相关的参数来满足常规校正中系统适用性试验的限度要求。

相关系数就是通常要求的参数(在ICH指导原则中也被提及),但它不是定量评价线性程度的参数,它只是表明在两套数据之间是否存在联系<sup>[30]</sup>。这在图6中已有显示。图6(a)线性回归的相关系数值为0.99916。然而,在图6(b)二次回归曲线中,作为衡量预测(将来的)实验数据与回归曲线之间偏离的更为狭窄的95%预测区间,从中可以看出来线性回归的偏差。通过考察灵敏度曲线,

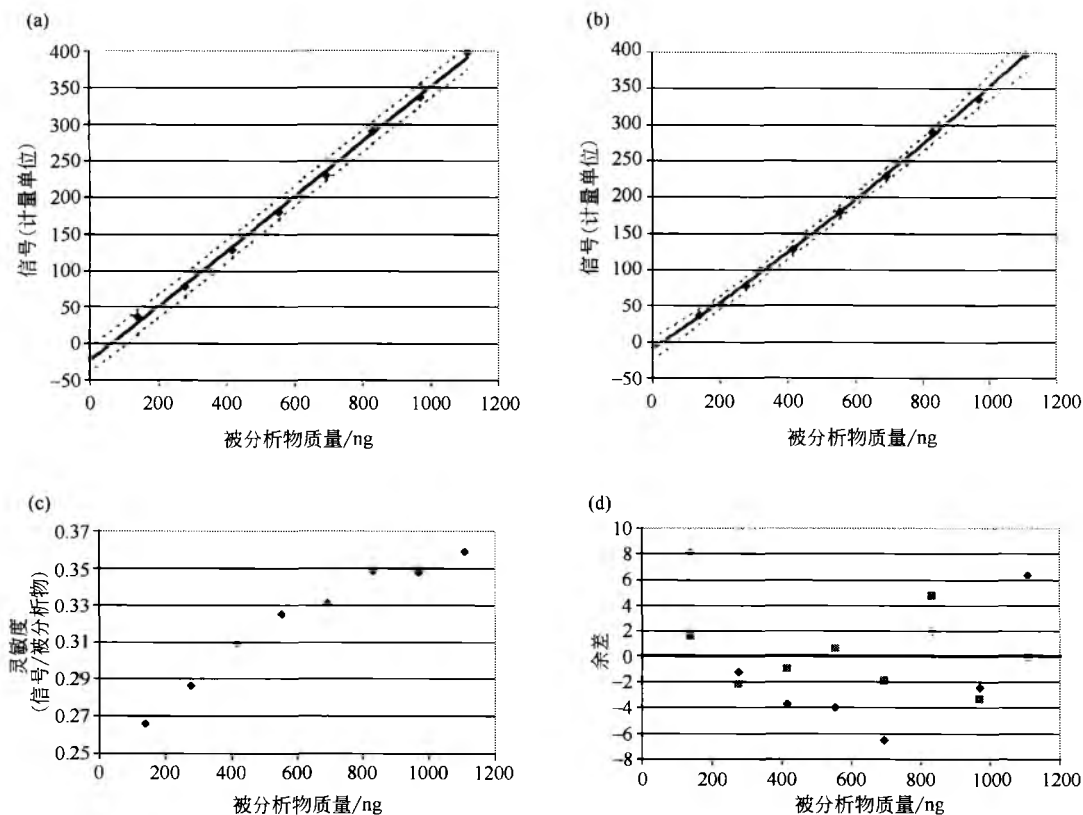


图6 线性响应函数的偏差。实验数据来源为一个配有氮检测器的LC方法。(a) 不含权重的线性回归 ( $y=a+bx$ )。图上显示了回归直线和95%预测区间的上下限。计算得到下列各项参数: 斜率及其95%CI,  $0.374 \pm 0.015$ ; 截距及其95%CI,  $-23.09 \pm 10.72$ ; 余差平方和, 189.68; 标准差SD, 5.62; 斜率的相关标准误差, 2.41%; 灵敏度的RSD, 10.12%; 相关系数, 0.999 16。(b) 二次回归 ( $y=a+bx+cx^2$ )。图上显示了回归曲线和95%预测区间的上下限。计算得到下列各项参数: 系数a, -9.217; 系数b, 0.314; 系数c以及95%CI,  $0.000\ 048 \pm 65.04\%$ ; 余差平方和, 45.965; 余差的SD, 3.032。(c) 灵敏度曲线 (信号与待测物比-待测物浓度) (d) 余差曲线 (实验值与计算得到的信号值之间的差异-待测物浓度): 不含权重的线性回归的余差曲线 (◆) 和二次回归的余差曲线 (■)

即信号待测物浓度比-待测物浓度 [图 6 (c)], 也可以容易地辨别。图 7 中, 浓度的函数在方法的线性范围内为一条水平线。ASTM<sup>[31]</sup> 推荐了一个在灵敏度平均值  $\pm 5\%$  的区间。这一区间应当随待测浓度范围的变化而调整, 根据研究的目的选择一个可以接受的精密度。与含量测定的区间 (如  $\pm 2\%$ ) 相比, 在 QL 周围的浓度区间可宽些。将实验值与由回归方程计算得到的值之间的差对浓度作图 (余差曲线, 离散图), 是另一种评估线性的图解式方法。选择适当的响应函数, 余差在零线上下表现为一个随机的 (并且狭窄的) 分散; 否则表明存在一个系统的图式 [图 6 (d)]。然而, 假使只有很少的数据 (举例来说, 按照 ICH 为 5 个数据), 系统图式可能很难辨别。此时, 由于灵敏度曲线上的数据点可能具有向上或向下的趋势, 因而更容易判断。

斜率的标准误差是一个适当的评估线性的定量参数。它测量了回归曲线与实验值之间的偏差, 因而是一个与回归精密度有关的性能参数。斜率的标准误差可用百分比 (斜率的相对标准偏差) 的形式表示, 与给定浓度范围内精

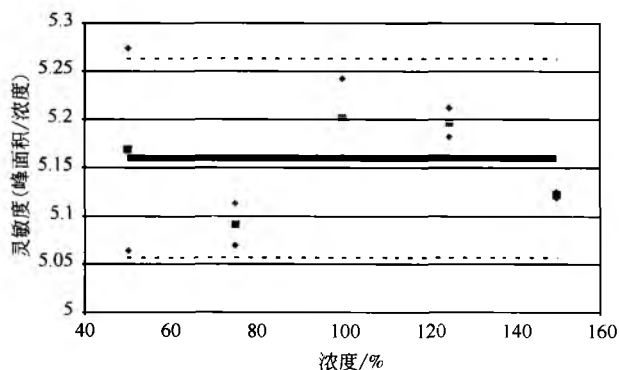


图7 一个带紫外检测器的LC分析方法的灵敏度曲线 (信号与待测物比 vs. 待测物)。图中显示了灵敏度的平均值 (■) 和单点值 (◆)、平均灵敏度 (实线) 和灵敏度平均值  $\pm 2\%$  的区间 (虚线)。与较高浓度比较, 那些较低浓度的点具有更大的离散, 这是因为其对于灵敏度比值具有更大的影响 (权重)



密度研究中得到的 RSD 具有可比性（如在 QL 的 RSD 为 10%~20%，在含量测定时为 1%~2%）。因此，相对于余差平方和与余差标准偏差，这一参数更适用于对回归进行评估，尽管前两者也可衡量实验数据和回归之间的偏差，但其评估却依赖于信号值的绝对大小，而且其评估结果很难与其他仪器或方法的结果进行比较。

以统计为基础进行的线性测试还具有检查二次项系数的作用 [图 6 (b)]。如果二次项系数  $c$  ( $y=a+bx+cx^2$ ) 的 CI 包括零，那么二次项为零，该方程为直线方程。但是，如果存在统计学上的差异，应该评估其与实际的相关性。举例来说，如果数据显示一个非常小的离散，并且具有微小的趋势，二次方程的回归结果（从统计学意义上）将会更好。但如果在工作范围内，与预期精密度（如最大偏差为 0.1%、工作浓度的 RSD 为 1.4%）相比，两个回归模型所得结果之间的差异可以忽略，则并非模型越复杂越好。

对截距的评估：纵坐标的截距表明存在着系统误差，如图 6 (a) 所示。如果没有介质、待测物吸附等的影响，回归直线一定通过原点（在实验数据的随机误差范围内）。这是建立单点校正方法和用于杂质测定的 100% 方法的先决条件。所谓单点校正，实际上就是两点校正直线，一点为零点，另一点等于标准品的浓度。从统计学上来看，当截距的 CI（通常在 95% 显著性）包括零点时，截距为零。如上文所述，如果得到统计学上的显著性差异，应该对统计学试验认真解释并评估显著性差异的实际意义。另一方面，大的波动性可能会掩盖零点和截距本身存在的偏差。因此，作为一个绝对的参数，截距应该被表示成 100% 工作浓度时分析信号的百分比形式。至于允许的限度，可基于精密度的可接受值（如含量测定时为 1%~2%）的倾向来确定。事实上，这一方法可看作是在工作浓度处的波动向原点的外推。为了避免权重效应，非常大的外推可能是不利的。即使在含量测定所要求的范围为 80%~120% 时，单点校正的线性也在达到 10%~50% 时才开始有效。

2.3 准确度

通过比较获得的准确度 对于原料药，定量评估准确度唯一可能的方法是通过与另外一个分析方法所得结果进行比较或者与对照物质 [假定通过其他方法和（或）其他特征建立] 比较。这种比较可采用统计上的  $t$ -检验（见统计学的教科书或对应的软件）完成。此时，这些统计学检验的缺点（更确切地说是使用这些统计学检验的合理性）就显得尤其重要。必须考虑的是两种独立的分析方法大多具有不同的专属性，这可能对结果产生系统性影响（表 2）。如果这种影响可以量化，那么在统计比较之前应该对平均值进行校正。如果这种校正是不可能的，那么就违反了统计学检验的假定条件，也就不应进行  $t$ -检验。取而代之的方法应该是评估这两种方法所得结果间差异的绝对大小是否小于允许值（如 2%）。

表 2 通过 LC 含量测定方法和 Dumas 氮测定方法的比较考察准确度。后一种方法获得的含量结果已经用 LC 法测定的杂质质量加以校正。平均值  $t$ -检验结果大于表中临界值，因此，（在统计学意义上）平均值具有显著性差异。但是，在两个具有完全不同的方法学的方法之间的绝对差值只有 0.89%

编号	LC 法测定含量/%	氮测定法测定含量/%
1	92.93	94.18
2	91.32	93.22
3	92.66	92.84
4	93.50	92.77
5	92.41	92.58
6	92.58	92.77
7	91.27	93.03
8	90.66	92.96
9	91.56	92.96
10	93.17	
平均值	92.21	93.03
95%CI	91.53~92.88	92.68~93.39
RSD	1.02	0.50
$t$ 检验 ( $d_f=17, 95\%$ )		
临界值	2.11	
测试值	2.38	

通过回收率获得的准确度：介质（空白）和待分析物之间的干扰、仪器设备的吸附作用、样品处理过程中对被分析物不完全的提取、降解等对准确度的影响均可以通过在介质（空白）中加入已知量的待分析物来证实。例如，在空白辅料中加入原料药（模拟制剂）或在原料药或制剂中加入杂质/降解物，然后进行分析。上述这些操作应该在尽可能真实的情况下进行。理想的做法是在制剂中加入不同量的活性成分。而可靠性最差的做法是在空白溶液中加入标准储备溶液。

回收率可以通过分别计算每个水平的百分比回收率或者以测得量 vs. 加入量进行线性回归（回收率方程）获得（表 3）。

用前一种方法，可以检验平均回收率是否与理论值 100% 存在显著性差异（例如，将 100 包括在 95% CI 范围内）。然而，如上文所述，应该考虑该差异的绝对值是否是可接受的，特别是在低浓度范围内进行杂质测定时。

对于回收率方程，可以检验斜率和截距分别对应理论值 1 和 0（分别为它们的 95% CI）或者对应它们偏差的可接受限度。由于权重效应不同，两种方法可能导致不同的结果。百分比回收率计算可以容易地对结果进行解释，所以至少是窄范围内的首选方法。

使用与质控测试方法相同的定量方法对准确度进行验证是完全必要的。当单独使用原料药进行校正的时候，与理论值存在的回收率偏差可能暗示待分析物和空白的组分之间存在着一定的干扰。在这种情况下，应该人为地将原

料药标准品和空白混合后进行校正。这种干扰也可以通过分别测定不同浓度的原料药溶液的线性和加入对照品的空白的线性来检测。

表3 通过回收率考察准确度。原料药以固体状态加入空白片剂粒中,加入剂量为标示量50mg的80%~120%。进一步的样品准备依照控制测试试验操作

	加入待测物/mg	测得待测物/mg	回收率/%
	39.880	39.640	99.40
	40.030	39.950	99.80
	40.590	40.140	98.89
	49.930	49.780	99.70
	49.880	50.180	100.60
	50.200	50.450	100.50
	60.470	60.050	99.31
	60.190	60.490	100.50
	60.130	59.830	99.50
百分比回收率/%			
平均值	99.80		
与理论值差异	0.20		
95% CI	99.33~100.27		
	与100%比较没有显著性差异		
RSD	0.61%		
回收率方程			
斜率	1.005		
95% CI	0.975~1.036		
	与1比较没有显著性差异		
截距	-0.353		
	-1.909~1.202		
	与0比较没有显著性差异		
斜率的相对标准误差	0.63%		
相关系数	0.99942		

## 2.4 精密度

测定精密度应该使用均匀可靠的样品。依照ICH的推荐,在整个范围内进行9个点的测定,也可以使用人为制备的样品或样品溶液,并结合验证指标的线性、准确度和精密度在同一实验系列中进行测定。然而,应该指出,额外增加的制备步骤将导致更大的波动性。另一方面,还无法证明样品均匀性和样品本身的问题。

能够完全了解不同水平的精密度是很重要的,尤其是当接受限度已设定或者结果的波动性将带入下一步计算时。结果的不确定度经常被低估,尤其是涉及长期应用时<sup>[32]</sup>。

基于实验得到的标准偏差的大波动性也应加以考虑(图8)。

除了ICH级的重复性和中间精密度外,系统精密度,也就是单一样品溶液重复进样/测定(又称作进样重复性或进样精密度),也提供了有价值的信息。对这些数据进行评估将有助于确定所选用的仪器装置是否适用。进样精密度也将成为方法系统适用性试验要求的一部分,并且应当设定一个合理的接受标准。在EP中,只有当一个方法的最大允许进样精密度与质量标准的限度相关联时,才能进行适用性的特别评估<sup>[23]</sup>。但是,必须确保建立的质量标准的限度是适当的,也就是说应该考虑分析和生产的波动性<sup>[33]</sup>。

各种不同程度的精密度可以采用方差分析的方法计算得到<sup>[34]</sup>。全部的偏差均可归结为系列内部和系列间的贡献,这样也有利于我们对分析方法中最灵敏的部分及其耐用性(表4)进行评估。含量测定可接受的限度由质量标准的限度获得,而质量标准限度的建立依赖于经验和方法的技术特点。使用前一个方法可以测定质量标准的限度或者分析方法的精密度的适用性。LC含量测定法系统精密度的典型RSD应该在1%以下,对于重复性可升至1%~2%,而中间精密度/重现性预计为(平均)重复性的2倍(取决于偏差的数值、实验的时间等)<sup>[35,36]</sup>。对于有关物质的测定,波动性主要取决于浓度的水平。杂质总量的重现性可达10%~30%<sup>[37]</sup>。

表4 片剂中活性成分含量的重现性研究(mg/g)。将碾碎的片剂粉末在2个实验室各由2名分析人员分别称量6次并且均按照质控测试方法分析

	实验室 1		实验室 2	
	分析人员 A	分析人员 B	分析人员 C	分析人员 D
	698.9	701.5	687.9	695.9
	699.5	695.2	695.2	695.9
	696.5	699.0	687.8	694.6
	701.7	704.1	696.0	699.4
	709.1	703.8	700.1	693.9
	714.0	704.9	698.3	692.0
	平均值	703.283	701.417	694.217
95%CI	±7.131	±3.914	±5.485	±2.608
RSD	0.97%	0.53%	0.75%	0.36%
BARTLETT 方差均匀性检验（99%）				
临界值	11.300			
测定值	4.692			
方差分析（ANOVA）				
组间方差	23.381			
组内方差	16.127			
总体方差	39.508			
总体平均值	698.550			
95% CI	±2.654			
重复性	0.69%			
重现性	0.90%			



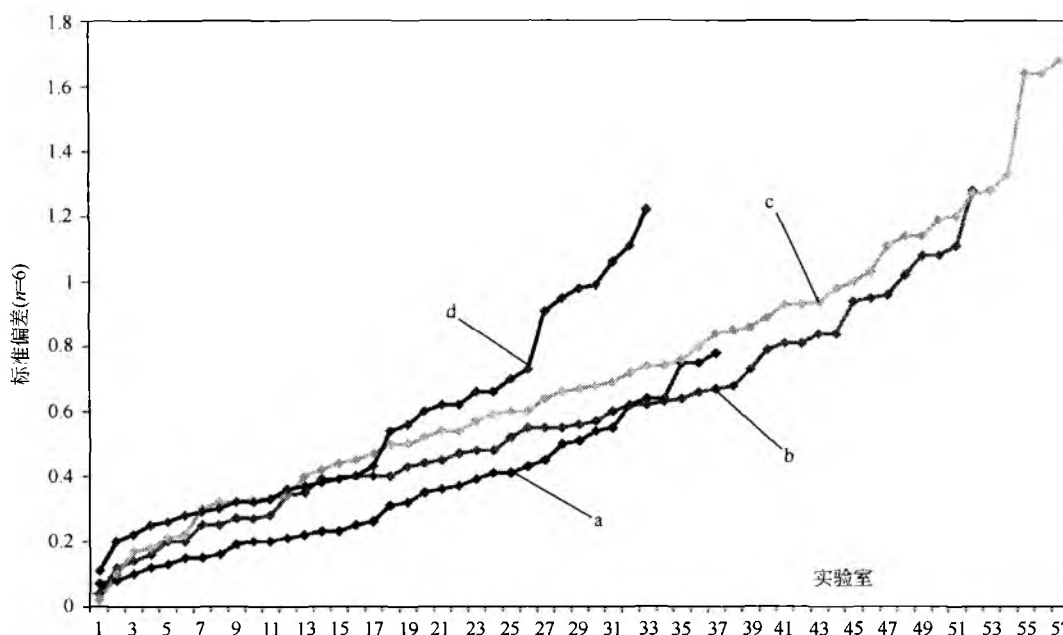


图8 来自合作研究的不同类型原料药分析方法的重复性标准偏差。6组测定值的标准偏差按递增的顺序排列。使用 Cochran's 检验剔除异常的 SD (在图中未显示)。重现性是通过 Grubb's 异常值检验后对保留的平均值计算而得。对于方法 a~c, 实际含量为 100%, 方法①计算得到的总平均值为 96.77%。(a 线) 盐酸麻黄碱外消旋体的电位滴定法。39 个实验室参加, 2 个被剔除。方法的重复性和重现性分别为 0.41 和 0.64。(b 线) 醋酸氢化泼尼松的紫外测定法 (吸收系数法)。64 个实验室参加, 12 个被剔除。方法的重复性和重现性分别为 0.63 和 1.38。(c 线) 桂利嗪的紫外测定法 (吸收系数法)。64 个实验室参加, 7 个被剔除。方法的重复性和重现性分别为 0.82 和 1.91。(d 线) 氯唑西林钠的 LC 测定方法。34 个实验室参加, 1 个被剔除。方法的重复性和重现性分别为 0.65 和 0.60 (数据来自文献 [36])

## 2.5 检出限和定量限

每一个研究人员都应该清楚所得的 QL (或 DL) 与当时测定采用的仪器装置关系密切。除分析方法的指标外, 还可能代表更多的系统参数<sup>[16,37]</sup>。此外, 还依赖于所用的计算方法。

在诸如药物分析等一般的 QL 分析中, QL 的真实性、与所用仪器相对独立性是很重要的 (如对于有关物质测定报告的一致性或用于方法的移植), 可以直接来自各种不同仪器的 QL (或 DL) (在研发阶段的“中间 QL”) 或根据控制试验的要求 (毒理学或杂质定性测定的质量标准限度) 设定。例如, 对于达到质量标准限度 50% 的 QL 可允许用于适当的定量。对于未知杂质, ICH 报告阈值 0.05% 或 0.03%<sup>[4,5]</sup> 可定义为 QL。经方法验证的实际的 QL 可能在规定的限度以下 (不论低于限度多少)<sup>[38]</sup>。因此, 在 ICH 指导原则中描述的每一个方法都可采用。

由基线噪音计算。对于色谱法, DL 和 QL 可以从噪音计算而得。由一个空白进样而得到的 (随机的) 基线的波动即为“噪音”。推荐的做法是在相当于 (预计的) 待分析物峰的峰宽至少 20 倍的范围内, 取信号最高点与最低点之差 (振幅)<sup>[39]</sup>。这是一个非常简单的方法, 但是对操作人员的要求较高<sup>[40]</sup>。应该注意避免将基线趋势 (漂移) 解释为“噪音”。噪音仅当与待测物“峰宽”的信号类似时才会

影响其检出和测定。还应该考虑该结果表现为信号 (峰) 的高度。

由线性计算对于那些根据回归直线计算的方法, 应该注意的是, 残余标准偏差受信号值绝对大小 (权重效应, 方差均匀性) 的影响很大, 因此受线性回归浓度范围的影响也很大, 故这一范围不应超过 DL 的 10 倍, 以保证方差是均匀的。

另外一个方法是, 直接以在低浓度范围内分散的实验数据点为基础<sup>[41]</sup>, 取回归直线的预测区间。这个区间可以作为 (未来) 测定结果的概率分布, 可在实验中得到。待分析物浓度区间 95% 上限被定义为 DL (图 9, DL), 其概率分布与空白的分布有 50% 的重叠 (图 9, B) (因此其出错率为 50%)。至于 QL, 重叠部分减少至 5% (图 9, QL)。因此, 在后一情形下可以进行可靠的定量。

由精密度估计 QL 也可由精密度估计获得。重复分析不断减少的待分析物浓度, 并将得到的 RSD 与相应的浓度作图。如果 RSD 超过一个预先定义的限度 (如 10% 或 20%), 则将对应的浓度确定为 QL<sup>[15]</sup>。然而, 由于低浓度范围内标准偏差的离散程度很大, 故应该有足够的分析次数 (图 10)。如果是对一个定义的 QL 进行验证, 这一过程可被简化。此时, 含有定义的 QL 量杂质的样品被重复分析, 如果获得的 RSD 低于预先设定的限度, 说明分析方法具有合适的灵敏度。

① [http://dg3.eudra.org/pharmaco/gmp\\_doc.htm](http://dg3.eudra.org/pharmaco/gmp_doc.htm)

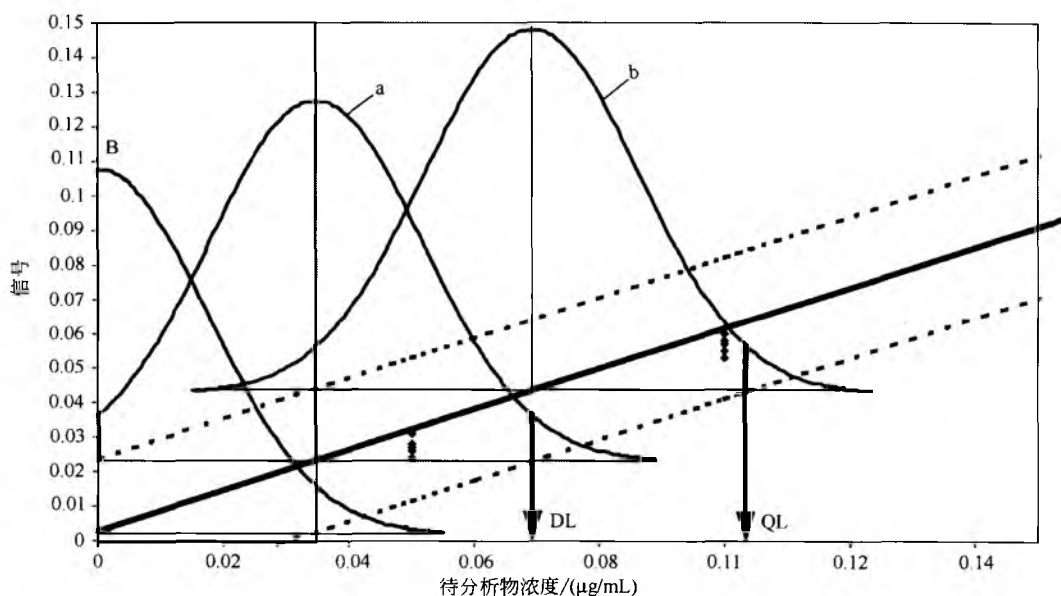


图9 由回归直线95%预测区间计算得到的检测限和定量限。LC峰面积由0.05~1µg/mL范围内6个浓度的待分析物分别进样6次获得。回归直线显示了较低浓度范围的95%预测区间(虚线)。图中标明了空白的概率分布(B)、对应于检测限的待分析物浓度的概率分布(DL, a线)和对应于定量限的待分析物浓度的概率分布(QL, b线)。95%预测区间的限度代表对应浓度95%概率分布的限度,也就是说在(将来的)实验结果中,20例中有19例的结果预计在对应浓度的区间内。所有实验的结果处在空白的概率分布中时(灰色阴影部分)无法与空白区分。这在检测限和定量限的情况下分别达到所有实验结果的50%和5%

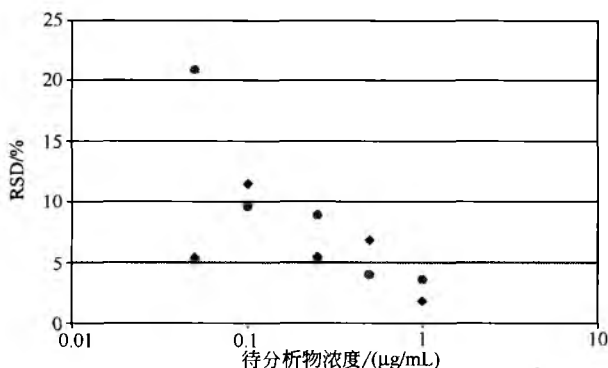


图10 由0.05~1µg/mL中各浓度的待分析物分别进样6次获得的相对标准偏差。图中显示了相隔8周在同一LC系统得到的二套数据。出于演示的目的,图中任选了显示5%RSD作为进样精密度的接受限度

如果采用各种浓度来获得DL和QL,应该在原料药或制剂中加入可以得到的杂质和降解物,也可以通过混合不含杂质和包含杂质的样品获得不同的含量。活性成分或基质组分(空白、空白溶液)的浓度应该保持在测定的规定水平。未知杂质的QL可以从代表性的峰或从已知杂质/降解物的QL推论得到。

验证所得DL/QL的有效性应该在日常的系統适应性测试中进行(从目视或信噪比得到)<sup>[37]</sup>。

## 2.6 耐用性

方法参数的有意变化可以为衡量其将来在日常使用中

的可靠性提供参考。耐用性研究的范围依赖于所选的方法,但对它的评价应该在其研发阶段就加以考虑。

典型的变化可以包括提取时间、通过测定仪器的流速、供试品溶液的稳定性等。对于色谱方法,耐用性研究的典型变化包括不同的色谱柱、温度、流速、流动相pH和有机相的比例。在耐用性实验中可以使用HPLC优化软件设计开发一个矩阵<sup>[42,43]</sup>。但是,在进行定量统计设计时应该特别注意相关变量的合并,否则会产生额外的工作量。例如,流速、有机相的改性剂和色谱柱等是否也会影响样品和对照品的定量,因此在研究分离情况时也需要对这些因素进行考察。

对一个分析方法耐用性的定量评价是通过比较不同水平的中间精密密度(方差分析)来完成的(表4)。当然,这个方法仅显示了基于中间精密密度研究产生的随机效应。当耐用性不够时,该方法通常无法识别其原因,此时就需要进行系统的考察。

如果耐用性研究显示实验数据易受方法参数的影响,应该建立适当的系统适用性要求,以保证日常检验中分析方法的有效性。

## 2.7 系统适用性试验

通过分析方法验证得到“表现良好”和“条件良好”的系統/仪器(包括定义的变量)在一定程度可以说是方法/系統组合的“快照”。为了确保在日常检验中现有方法的完整测量仪器系统的适用性,应该在验证结果和耐用性研究的基础上建立合适的系統适用性试验参数,并且应该

考虑到日常条件或不同实验室的多样性引起的更大的波动。

系统适用性试验的范围主要依赖于诸如药物的开发阶段、分析方法的目的、对照品是否易得等因素。下列参数可以考虑<sup>[23, 37, 44, 45]</sup>：

- 与对照品的测试色谱图进行比较（比较保留时间）
- 系统精密度（进样重复性）；LC 的允许限度：2% RSD<sup>[44]</sup>，原料药的质量标准上限（如 102.0%，并且  $n=6$ ；0.85%）<sup>[23]</sup>
- 分离度的允许标准：不低于 2.0（建议对于主峰）
- 理论塔板数
- 拖尾因子的允许标准：0.5~2.0（推荐）
- 压力降
- 基线漂移
- 在不同浓度时（检测器）的线性或灵敏度
- DL/QL（如信噪比的允许标准分别不低于 3 和 10）

### 3. 药品开发和生产期间的验证

ICH 要求针对新药的申报。包括用于过程控制和赋形剂、起始原料、中间体或药品开发期间的质量控制的分析方法在内的药品生产质量管理规范规则没有关于验证的详细信息。在实际应用中，应将 ICH 指导原则作为开发或生产过程中进一步的努力和要求。根据不同的验证目的，验证可被划分为三个明显的阶段。

#### 3.1 阶段 I

阶段 I 是早期开发阶段（临床前期）对起始原料和过程控制的分析方法的要求。在这个阶段，分析的原料药的数量相对较少，对照品的分析还未建立，合成或降解中杂质的信息近于空白。此外，还经常会发生原料药和制剂的改变和提高。故此时开展的验证是最低要求的验证，验证数据可以从常规测试中归纳。方法的专属性可以通过强力破坏试验中现有的批次和样品，并结合色谱条件（如梯度、洗脱时间和 pH）的简单变化来体现。为了证明线性，可以将待分析物稀释后进行（检测器的线性）测定。准确度可以由专属性、线性和精密度推断。系统精密度以 6 次进样为准。QL 由目测确定。为了证明方法的适用性，需对结果进行总结和评估。

#### 3.2 阶段 II

阶段 II 是对临床试验早期的原料药、制剂和中间体进行测定。在这个阶段，原料药的合成工艺逐渐完善，可以得到更高质量、更大数量的物质。原料药对照品得以建立，有关合成和降解杂质的信息也越来越多。当杂质可以得到后，相应的对照品得以建立。制剂的开发研究提高了临床试验所用成品的质量。此阶段必须建立正式的质控测试，验证的范围比阶段 I 显著地延伸了。专属性可以通过不同批样品、已经得到的杂质、赋形剂和稳定性试验的样品进行考察。还应考察色谱峰纯度。检测器或方法的线性（依赖于后者的复杂性）也需要验证。准确度可由推论得到

（原料药）或从工作浓度的三次回收率测定获得。根据所应用的方法，需进行重复性研究（ $n=6$ ）或中间精密度试验。定量限可通过目测亦可通过量化方法获得。文件中包含了考察和有关结果评价的概述。

#### 3.3 阶段 III

阶段 III 应用于 III 期临床试验和申报，也针对一些重要的中间体和 ICH 的要求。在这个阶段，原料药商业化的合成工艺已经建立，生产过程和降解杂质已经得到确证并且能够合成。最终的制剂处方和剂量也已确定。

此阶段需要提供一份完整的验证报告，其中包括对实验研究设计的描述和解释、对结果的详细讨论和评估。

在所有的阶段中，均可以使用验证软件以方便数据的标准化，提高数据计算整理成文的效率。但是，应该保证足够的灵活性以适应验证设计的每一个方案（或类型）<sup>[19]</sup>。

#### 4. 对验证状态的维护

在一些指导原则中提到了再验证这个术语<sup>[2, 10, 12]</sup>，有时是很详尽的<sup>[15]</sup>。然而，应该知道，验证在某种程度上可以说是一个完整系统设备，即分析方法真实状态的“快照”。因此，它可以作为一般适用性的基础，或者说是证明。如果对分析方法的调整严格限制在验证和推荐的范围内<sup>[23, 45]</sup>，则没有必要进行重复验证。只有当方法改变了，才需要进行新的验证。

当然，一定要保证分析方法与验证状态的一致性，可以通过监控 SST 结果获得。另一种可能是（有规律地）进行补充性的考察，如在常规分析中进行进一步的中间精密度研究。采用这一方法，可以补充和扩充已有的信息，并对非常重要的时间因素进行适当的考虑。信息可以通过分析方法的长期表现获得或从日常使用中的可靠性获得，如对真实的（长期）分析波动性更准确的估计。

图 11 显示了在药品开发期间超过 10 个月 SST 精密度结果。由标准制剂的分析结果计算得到 RSD，也就是由两个独立的制剂每个进样 4 次计算得到（单点校正）。因此，该波动性是系统精密度和重复性的综合。由于平均值为 0.88%（代表了超过 10 个月共 58 次分析的真值），应当注意那些有规律地散布在 1.6% 以上的点（结果）。所有 RSD 中有三分之二集中在 0.5%~1.3%。共有 2 例（约 3%）RSD 超过 SST 的限度 2.0%，这是由总的（称量）误差引起的。

质量控制图是一个用于考察分析的波动性和准确度的非常有效的方法。由于结果是可以累积的，则利用统计学分析（统计学过程控制，SPC）得到额外的表格成为可能。为了保证在统计学控制下对分析方法进行连续监控和证明，可以对正在进行的过程（如批生产）和已经检出的变化趋势进行可靠的评估。图 12 为一个 LC 法测定的注射剂溶液含量的控制图。每次应用分析方法时均应对控制样品（“样本”）进行测定（历时约 6 个月）。目标平均值和标准偏差

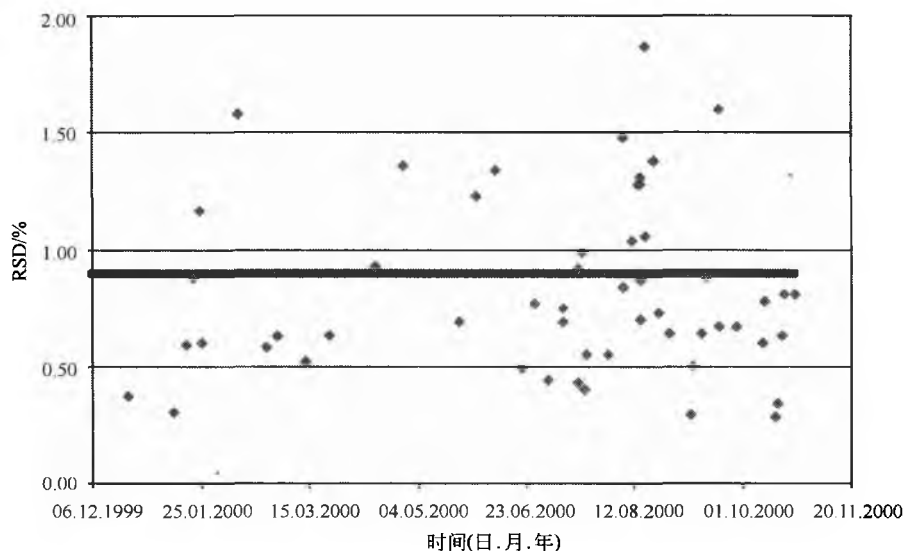


图 11 历时约 10 个月的 LC 分析方法对参考标准制剂测定结果的相对标准偏差。RSD 由两个独立的制剂每个进样 4 次计算得到。共有 58 个结果，其中有 2 个超过规定的限度 2.0%（分别为 3.85% 和 3.94%，在图中未显示）。平均 RSD (0.88%) 在图中为一条粗黑线（感谢德国 Aventis 的 C. Korn 博士提供的数据）

由头 20 次测定计算得到并且换算至 100%。除 1 个数据外，所有的结果均在控制限度（平均值上下 ±3 倍标准偏差）内。在溢出值（图 12 中上方的箭头）之前的一组数据由同一标准品溶液获得，数据向上限漂移。对于下一组分析（图 12 中下方的箭头），重折制备标准品溶液。“正常”的结果 99.0% 表明上述漂移是由标准品溶液的偏离引起的。当平均值的偏差在预期的分析波动性范围 1.5%（对于单点

测定）内时，这种偏差很难在日常分析中被发现。与之相反，这种变化趋势在控制图中却很容易被检测到。除了观察是否超出限度外，控制图还能监控“反常的”（系统）图式，如 6 个点稳定地逐渐上升或下降，在一排之中连续有 14 个点上下更迭等（详见文献 [46]）。该图不仅提供了获得分析系统可靠（长期）信息的机会，并且还可以主动地对其进行调整。

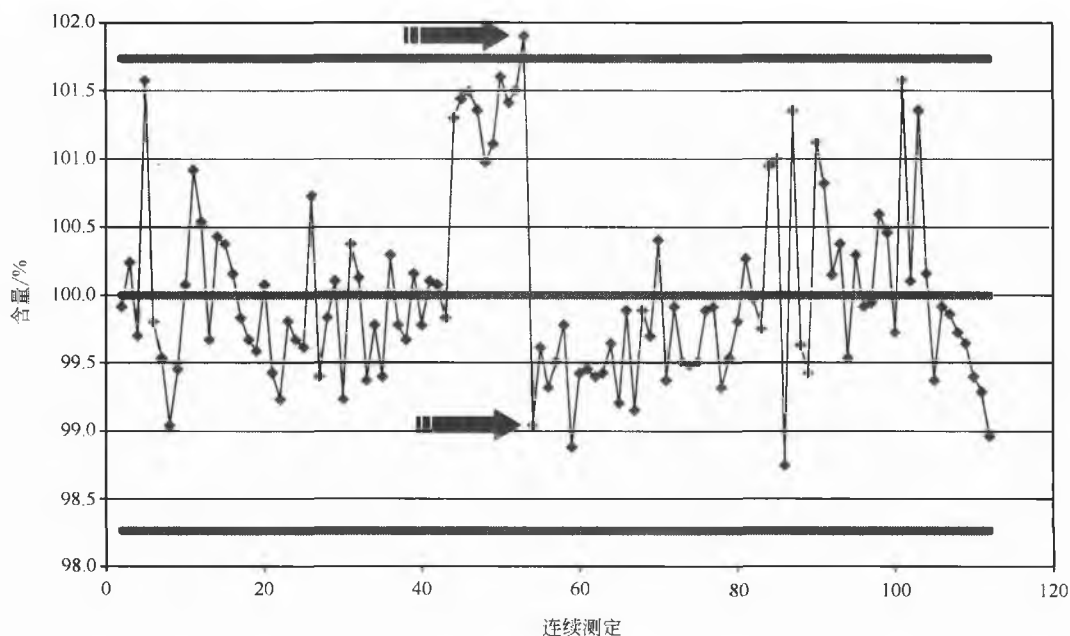


图 12 注射剂溶液单点 LC 法测定的控制图。平均值和 SD 由头 20 次测定结果计算得到。平均值被换算为 100%（中间那条粗黑线）。控制限度（上、下两条粗黑线）对应于 3 倍的 RSD。图中显示了连续的实验结果，并且便于系统的模式识别，各点间以细黑线连接。下方的箭头表示在发生超出控制事件（上方的箭头）之后更换了新的标准溶液（感谢德国 Aventis 的 H. J. Ploss 博士提供的数据）

如此连续的分析验证过程类似于质控过程<sup>[47①,48]</sup>。与4Qs(设计、安装、操作和性能的质控)一样,3Vs均被定义,即设计、操作和性能验证。“设计验证”包括了方法的开发,其中建立了基本的性能要求。在“操作验证”中需要证明这些要求一般能够得到满足,也就是说,这一部分相当于“传统”验证。性能验证是对一个分析方法的验证状态进行连续地监控。

## 结论

分析方法的验证不是一个独立的或形式上的“检查表”活动,而应该被看成是一个完整质量保证概念的一部分,质保就是要保证分析结果的准确度和可靠性以及药物的质量、安全和效能。

对于这么一个完整的系统,所有部分(如设备的质量、分析方法的性能、分析的波动性、质量标准限度等)必须相互兼容以避免(分析上引起的)超出控制或OOS的结果。以验证指标和ICH指导原则为基础,每个分析方法必须验证与其性能相联系的有关参数。而确定这些参数并且进行相关的验证研究设计是分析人员的职责。接受标准应在验证计划中加以规定,这可以由以前的经验(分析技术的情况)或者由质量标准限度计算得到。对于那些有特殊目的的测试方法,最好采用可接受的绝对允许限度。针对一些有倾向性的测试,小心使用统计学检验,确保合理。对验证结果进行评估是分析人员的任务,绝不能被简化为一个统计学检验的结果!然而,统计学分析在证实质量标准限度的兼容性、分析的波动性、计算允许限度和预计未来风险方面都非常有用。

通过使用诸如控制图等方法监控所用分析方法的验证状态,可以获得有关方法的长期表现的可靠信息,并且可以极早地发现变化趋势。通过这种方式将数据转化为信息和知识,可以在OOS结果等问题发生之前对分析系统(或生产过程)加以调整(以主动代替被动)。与设备质控相类似,建议使用一个连续的系统,包括设计、操作和性能验证(3Vs)。

## 参考文献

1. International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH).
2. ICH Q2A: Validation of Analytical Methods (Definitions and Terminology), October 1994, Implementation (Step 5): EU: Adopted by CPMP, November 94, issued as CPMP/ICH/381/95; MHW: Adopted July 95, PAB/PCD Notification No. 755; FDA: Published in the Federal Register 1995, 60, 11260.
3. ICH Q2B Analytical Validation—Methodology, November 1996, Implementation (Step 5): EU: Adopted by CPMP, December 96, issued as CPMP/ICH281/95; MHW: Adopted October 97, PMSB/ELD Notification No. 338; FDA: Published in the Federal Register 1997, 62 (96), 27463—27467.
4. ICH Q3A, Impurities in New Drug Substances, March 1995, Revised Guideline: Consultation (Step 3): EU: Released for Consultation, November 1999, issued as CPMP/ICH/2737/99; MHW: Released for Consultation, PAB/PCD Notification No. 1829, 17 December 1999, deadline for comments on 31 March 2000; FDA: Published in the Federal Register 2000, 65 (140), 45085—45090.
5. ICH Q3B, Impurities in New Drug Products, November 1996, Revised Guideline Consultation (Step 3): EU: Released for consultation, November 1999, issued as CPMP/ICH/2738/99; MHW: Released for consultation, PAB/PCD Notification No. 1829, 17 December 1999, deadline for comments on 31 March 2000; FDA: Published in the Federal Register 2000, 65 (139), 44791—44797.
6. ICH Q3C, Residual Solvents, July 1997, Implementation (Step 5): EU: Adopted by CPMP, September 97, issued as CPMP/ICH/283/95; MHW: Adopted March 1998, PMSB/ELD Notification No. 307; FDA: Published in the Federal Register 1997, 62 (247), 67377.
7. ICH Q6A, Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products, Chemical Substances, October 1999, Implementation (Step 5): EU: Adopted by CPMP, November 1999, issued as CPMP/ICH/367/96; MHW: To be notified; FDA: Published in the Federal Register 2000, 65 (251), Notices, 83041—83063.
8. ICH: Q6B, Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products, March 1999, Implementation (Step 5): EU: Adopted by CPMP, March 99, issued as CPMP/ICH/365/96; MHW: To be notified; FDA: Published in the Federal Register 1999, 64FR, 44928.
9. Hokanson, G. C. A life cycle approach to the validation of analytical methods during pharmaceutical product development, Part I. Pharm. Technol. 1994, 18 (9), 118—130, Part II: 1994, 18 (10), 92—100.
10. Guidelines for Submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation, U. S. Food and Drug Administration, Center for Drugs and Biologics, Department of

① [http://dg3.eudra.org/pharmaco/gmp\\_doc.htm](http://dg3.eudra.org/pharmaco/gmp_doc.htm).

- Health and Human Services, 1987.
11. CDER Guideline on Validation of Chromatographic Methods, Reviewer Guidance of Chromatographic Methods, U. S. Food and Drug Administration, Center for Drugs and Biologics, Department of Health and Human Services, 1994.
12. Draft Guidance Analytical Procedures and Methods Validation. U. S. Food and Drug Administration, Center for Drugs and Biologics, Department of Health and Human Services, 2000.
13. United States Pharmacopeia 24, National Formulary 19, Section 1225 Validation of Compendial Methods United States Pharmacopeial Convention, Rockville, 2000.
14. The Rules Governing Medicinal Products in the European Community, Vol. 3, Addendum, 1990.
15. Acceptable Methods. Drug Directorate Guidelines, National Health and Welfare, Health Protection Branch, Health and Welfare Canada, 1992.
16. Ermer, J. Validation in pharmaceutical analysis. Part I: An integrated approach. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2001, 24 (5-6), 755-767.
17. Van de Vaart, F. J. Content limits—Setting and using. *Pharmeuropa* 1997, 9, 1, 139-143.
18. Whitfield, R. G.; Hughes, D. W.; Layloff, T. P.; Cox, R. R.; Gressett, G. E.; Jimenez, P. J.; Andersen, J.; Reck, R. R.; Schniepp, S. Interpretation and treatment of analytical data. *Pharmacop. Forum* 1998, 24, 7051-7056.
19. MVA—Method Validation in Analytics (PC-software), NOVIA GmbH, Frankfurt, Germany.
20. Persson, B.-A.; Vessman, J.; McDowall, R. D. Is your method specific or just selective? *LC-GC Int.* March 1998, 160-164.
21. Meyer, V. R. Quantitation of chromatographic peaks in the 0.1 to 1.0% range. *Chromatographia* 1995, 40, 15-22.
22. Riley, C. M. Statistical parameters and analytical figures of merit. In *Development and Validation of Analytical Methods*; Riley, C. M., Rosanske, T. W., Eds.; Elsevier: Oxford, 1996; 15.
23. European Pharmacopeia, 3rd Ed.; Supplement 2001, General Monograph 2.2.46, Chromatographic Separation Techniques, 28-32.
24. Ebel, S. Validation of analysis methods. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1992, 342, 769-778.
25. Altria, K. D.; Dave, Y. K. Peak homogeneity determination and micro-preparative fraction collection by capillary electrophoresis for pharmaceutical analysis. *J. Chromatogr.* 1993, 633, 221-225.
26. Castledine, J. B.; Fell, A. F. Strategies for peak-purity assessment in liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1993, 11 (1), 1-13.
27. Bryant, D. K.; Kingswood, M. D.; Belenguer, A. Determination of liquid chromatographic peak purity by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1996, 721, 41-51.
28. Ermer, J.; Vogel, M. Applications of hyphenated LC-MS techniques in pharmaceutical analysis. *Biomed. Chromatogr.* 2000, 14, 373-383.
29. Ermer, J.; Kibat, P.-G. A quality concept for impurities during drug development—Use of the hyphenated LC-MS technique. *Pharm. Sci. Technol. Today* 1998, 1, 76-82.
30. Analytical Methods Committee; Uses (proper and improper) of correlation coefficients. *Analyst* 1988, 113, 1469-1471.
31. American Society for Testing and Materials, ASTM Designation E 1303-89; ASTM, Philadelphia, 1989.
32. Renger, B. System performance and variability of chromatographic techniques used in pharmaceutical quality control. In *The Future Face of the European Pharmacopoeia*, International Symposium, Cannes, EDQM, February, 8-9, 2001.
33. Daas, A. G. J.; Miller, J. H. McB. Relationship between content limits, system suitability for precision and acceptance/rejection criteria for assays using chromatographic methods. *Pharmeuropa* 1999, 11 (4), 571-577.
34. DIN ISO 5725-2; Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results; A basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method, 1990.
35. Küppers, S.; Renger, B.; Meyer, V. R. Autosamplers—A major uncertainty factor in HPLC analysis precision. *LC/GC Eur.* February 2000, 13 (12), 114-118.
36. Daas, A. F. J.; Miller, J. H. McB. Content limits in the European Pharmacopoeia. *Pharmeuropa* 1998, 10 (1), 137-146.
37. Miller, J. H. McB. System suitability criteria—A case study: The determination of impurities in dicloxacillin sodium. *Pharmeuropa* 2000, 12 (1), 8-17.
38. Validation of compendial methods. *Pharmacop. Forum* 1998, 24, 6582-6589.
39. Carr, G. P. R.; Wahlich, J. C. Analytical validation. In *International Pharmaceutical Product Registration*; Cartwright, A. C., Matthews, B. R., Eds.; Horwood Ellis: New York, 1994; 246-286.
40. Vial, J.; Jardy, A. Experimental comparison of the different approaches to estimate LOD and LOQ of an HPLC

- method. *Anal. Chem.* 1999, 71, 2672—2677.
41. Funk, W.; Dammann, V.; Vonderheid, C.; Oehlmann, G., Eds. *Statistische Methoden in der Wasseranalytik*; Verlag Chemie: Weinheim, 1985.
42. Bosque-Sendra, J. M.; Nechar, M.; Cuadros Redriguez, L. Decision protocol for checking robustness with previous outlier detection in the validation of analytical methods. *Fresenius J. Anal. Chemie* 1999, 365, 480—488.
43. Vander Heyden, Y.; Luypaert, K.; Hartmann, C.; Massert, D. L.; Hoogmartens, J.; De Beer, J. Ruggedness tests on the high-performance liquid chromatography assay of the United States pharmacopoeia XXII for tetracycline hydrochloride. A comparison of experimental designs and statistical interpretations. *Anal. Chim. Acta* 1995, 312, 245—262.
44. United States Pharmacopeia 24, National Formulary 19, Section 621, Chromatography, United States Pharmacopial Convention, Rockville, 2000.
45. Furman, W. B.; Dorsey, J. G.; Snyder, L. R. System suitability tests in regulatory liquid and gas chromatographic methods: Adjustments versus modifications. *Pharm. Technol. Eur.* June 1998, 30—33.
46. Shainin, D.; Shainin, P. D. Statistical process control. In *Juran's Quality Control Handbook*; 4th Ed. Juran, L. M., Gryna, F. M., Eds.; Section 24, McGraw-Hill: New York, 1988.
47. EU Guide to Good Manufacturing Practice, Draft revised version of Annex 15; Validation master plan; Design qualification, installation and operational qualification, non-sterile process validation, cleaning validation.
48. Bedson, P.; Rudd, D. The development and application of guidance on EQ of analytical instruments; HPLC. *Accred. Qual. Assur.* 1999, 4, 50—62.

(乐健 简龙海 译)

## 粉末和固体制剂用赋形剂

Hak-kim Chan

Nora Y. K. Chew

University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia

### 引言

赋形剂是将有药理活性的化合物制成适合患者服用的药用添加剂<sup>[1]</sup>。赋形剂是无活性的成分，但却是制成诸如片剂、粉剂等固体制剂必不可少的组分。如果无填充剂，要制成剂量 1mg 主药的片剂将十分困难。

赋形剂必须符合如下要求<sup>[2]</sup>：生理惰性、理化稳定性符合有关管理部门的要求、不影响药物生物利用度、无致病微生物污染、有商品供应、价格低廉。

事实上，没有一个赋形剂能满足以上全部条件，必须综合考虑取舍。例如，乳糖作为稀释剂广泛用于片剂和胶囊，但它并不适合缺乏乳糖酶的患者服用的，因为会引起痉挛和腹泻。赋形剂的作用应具体地根据每个剂型而定。

### 片剂和胶囊中的赋形剂

对于片剂和胶囊，赋形剂既有助于压片和胶囊的填充（如助流剂），又能满足配方需要（如崩解剂），除稀释剂用量较大外，其他赋形剂所占比例较少，一些润滑剂用量少于 1%。片剂、胶囊中的各种赋形剂的类型、用途、作用机制等详情已经在本书的其他章节中有充分的讨论。片剂用赋形剂的作用和类型见表 1，其中黏合剂、润滑剂、防黏剂是专门用于制造片剂的，其他赋形剂则也可用于胶囊。

应指出的是，压片的赋形剂有时彼此有相反的作用，如黏合剂和润滑剂，因为其黏合和防水的性质，会影响崩解剂的崩解作用。此外，某些片剂用赋形剂具有多种作用，这些作用可以是相似的（如滑石粉作为润滑剂和助流剂），也可以是相反的（如淀粉作为黏合剂和崩解剂）。在压片时，赋形剂加入的程序要依赋形剂的作用而定。

表 1 片剂用赋形剂的种类和作用

赋形剂	作用	例子
稀释剂	作为填充剂	糖类：乳糖、甘露醇、山梨醇、蔗糖；无机盐主要是钙盐、多糖类主要是微晶纤维素
黏合剂和黏结剂	帮助粉末结合成颗粒，供打片用	糖类：葡萄糖、糖浆；聚合物类：天然胶、淀粉、明胶、合成纤维素、PVP、聚丙烯酸（Euaragit™）
助流剂	改善颗粒从料斗到模孔的滑动性，以保证每片填充均匀	SiO <sub>2</sub> 、硬脂酸镁、精制滑石粉
崩解剂	加速片剂在胃肠道中崩解	淀粉及衍生物（Polypasdone XL）、微晶纤维素、陶土、海藻酸铵、胶类、表面活性剂
润滑剂	减少压片时模壁和颗粒的摩擦和出片的摩擦	水不溶性：硬脂酸盐、硬脂酸、滑石粉 水溶性：硬脂酸、氯化钠、乙酸盐、十二烷基硫酸钠（或镁）、聚乙二醇 4000 或 6000
防黏剂	减少压片时的黏冲，片面黏在冲模面上	滑石粉、玉米淀粉、硬脂酸金属盐、十二烷基硫酸盐
着色剂	识别及视觉的市场价值	天然色素、合成颜料
香料和甜味剂	改善咀嚼片口味	天然：甘露糖醇 合成：天冬甜素（阿斯巴糖）

如稀释剂和黏合剂要在制粒前与活性成分一起混合，崩解剂可在制粒前（即加在颗粒内）和（或）在加润滑剂时（即加在颗粒外面）然后再压片。

### 冻干粉中的赋形剂

冻干粉是冻干过程中得到的粉末，即在西林瓶中的药



物水溶液冷冻后再经过真空过程升华干燥所得<sup>[3]</sup>。该过程在低温下进行,特别适合于不耐热的化合物,如抗生素头孢菌素即常用此法制得<sup>[4]</sup>。有趣的是,在冻干时发现赋形剂会导致玻璃西林瓶破裂<sup>[5]</sup>,如甘露糖快速冻结后,在升温时机械膨胀导致瓶破裂。

在冻干时使用赋形剂有不同目的,填充剂使产品有悦目的外观,缓冲剂用于控制产品的 pH,这种产品在冻结时或复溶时只在 pH 范围很窄的溶液中稳定存在。必须注意到:在磷酸缓冲剂中,Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 在冻结时会结晶析出而引起 pH 显著下降<sup>[6]</sup>,这导致对与 pH 有关的有效成分的稳定性产生有害的影响。其他在冻干粉末中使用的赋形剂有增溶剂(如表面活性剂或共溶剂)、渗透压调节剂(如生理盐水和糖)、抗氧化剂(如维生素 C)以及用于多次注射容器的防腐剂(如苯甲醇和三氯叔丁醇)。在冻干的生物粉末中加入的赋形剂,主要是为了减少蛋白质在容器表面(如表面活性剂和球蛋白的量)的吸附<sup>[7]</sup>。赋形剂还专门用来使蛋白质药物在干燥状态时保持蛋白质分子的稳定,详见后述。

## 蛋白药物处方

治疗用蛋白质常用液体或在临用时复溶的冻干粉末制

剂,许多蛋白质药物在单独干燥时是不稳定的,发生了聚集。在一些赋形剂存在下稳定性在会有很大程度上的改善<sup>[8,9]</sup>,但也不是所有抗聚集的赋形剂都可用。蛋白质药物处方中的赋形剂要考虑如下因素:

氧化反应可能性:还原糖(乳糖、蔗糖)如与蛋白质作用(通过赖氨酸残基)生成糖基化蛋白质(即重组脱氧核糖核酸酶 I 乳糖被糖基化<sup>[10]</sup>)及其他反应产物,则不适合。不过,如果糖基化蛋白质不引起毒性和免疫原,又能保持治疗效果则也不一定成问题。

注射用的适合性:如海藻糖可能会产生毒性以外的其他情况,故尚未在任何一个权威机构认可的产品中使用。

非注射制剂的适用性:如干粉吸入剂,乳糖已用于上市的干粉吸入剂,也可能更适用于蛋白质药物的吸入剂处方中。

表 2 列出了冻干蛋白质处方中作稳定剂用的赋形剂。其中糖类是最广泛使用的稳定剂。但重组 α-抗胰蛋白酶在单独或与乳糖、蔗糖及 PVP 一起冻干时是稳定的,不需要添加赋形剂<sup>[11]</sup>。

表 2 一些用于保护冻干蛋白、多肽冻干剂的赋形剂

蛋白	赋形剂和用途	参考文献
重组人生长激素(rhGH)	甘露醇和甘氨酸作为无定形赋形剂,避免 rhGH 聚集 海藻糖作为防冻剂,保持 rhGH 的二重结构	[14]
牛和人胰岛素	糊精,Emdex™(喷雾干燥聚右旋糖),羟丙 β-环糊精减少胰岛素聚集	[22]
重组Ⅱ因子	多乙氧基醚-80 作为防冻剂,蔗糖为防干燥剂,组氨酸为 pH 缓冲剂,甘氨酸为成形剂	[23]
重组人白介素-6	无定形海藻糖,蔗糖或甘氨酸,或与甘露醇混合物防止聚集	[24]
重组人白介素-1	蔗糖、山梨醇、海藻糖、丙氨酸为防聚集、防脱酰胺剂,甘露醇、甘氨酸为膨胀剂,枸橼酸钠为缓冲剂	[25]
FK906 三肽	糖类(蔗糖、乳糖、海藻糖、麦芽糖)、多聚物(葡聚糖)以及盐类(NaCl, KCl),改变冻干粉末的玻璃化转变温度	[26]
重组人球蛋白	有机酸赋形剂分子在 C-1 位上有羧基或氨基,稳定 rHA,防止聚集	[27]
乳糖酸盐脱氢酶磷酸果糖激酶	聚乙二醇为防冻剂,糖类(甘露醇、乳糖、海藻糖)为防冻剂以防降低生物活性	[28]
碱性磷酸酯酶	乳糖和海藻糖在提高温度时较甘露醇更能维持较长活性	[29]
重组牛生长激素,溶菌酶	赋形剂(糖、山梨醇、甘油酯)和水分含量二者均影响蛋白质降解	[30]
血红蛋白	甘露醇保护蛋白质在冻干时由相分离而引起的降解	[31]
重组人ⅩⅢ因子	海藻糖和蔗糖保护蛋白质的天然二聚结构以及避免聚集	[32]

赋形剂的保护作用机制尚不十分清楚。经验指出可能与以下因素有关:

蛋白质-赋形剂玻璃态的形成、赋形剂的结晶性、赋形剂与蛋白质分子间氢键的形成、残留的水分。

玻璃是无定形或非结晶固体,它的性质由玻璃转化温度而定,在该温度之上,玻璃态变软到橡胶态。蛋白质由

赋形剂的稳定化可使其冻干的粉末保持在蛋白质-赋形剂系统玻璃转化温度( $T_g$ )以下,即保持在玻璃态。

与蛋白质稳定性尤其相关的是,在玻璃态时,分子的扩散速率和活动性远小于橡胶态,任何导致蛋白质降解的物理化学反应因蛋白质分子被“冻结”在与赋形剂所形成的玻璃态中而减少了<sup>[12]</sup>。

## F

与无定形赋形剂相反, 结晶性赋形剂如甘露醇会降低蛋白质药物的稳定性<sup>[13]</sup>, 但当甘露醇和其他赋形剂如甘氨酸共存而呈现为无定形时还是可用的<sup>[14]</sup>。氢键使蛋白质稳定, 可由 Fourier 转换红外 (FTIR) 光谱来证明, 该方法可提供蛋白质二级结构的信息。有赋形剂的冻干蛋白质酰胺 I 的吸收波长 ( $1600\sim 1700\text{cm}^{-1}$ ) 比单一的冻干蛋白质更类似于在水溶液的天然蛋白质。这说明在干粉中天然蛋白质的结构由蛋白质-赋形剂的氢键而保持。然而在 FTIR 测定中蛋白质样品用溴化钾压片, 被压的蛋白质的完整性被大大地忽略了<sup>[16]</sup>。

水分的存在使蛋白质分子的活动性增大而影响其稳定性<sup>[17]</sup>。为保持蛋白质在储存期的稳定性, 应有最适宜的水分<sup>[18]</sup>。水分可增强蛋白质表面基团的活动性<sup>[19,20]</sup>, 这可用固态核磁共振谱来测定。在冻干粉末中, 蛋白质和赋形剂之间水分的分配取决于赋形剂结晶或无定形的性质<sup>[21]</sup>。当蛋白质与无定形赋形剂配方并储存于密闭容器中时, 水的分配将根据水对蛋白质和赋形剂的亲和力而定<sup>[21]</sup>, 当无定

形赋形剂发生结晶化 (因温度升高) 时将释出吸附水, 从而导致蛋白质的稳定性出现问题<sup>[8]</sup>。

## 干粉吸入剂赋形剂

药用吸入气雾剂广泛应用于气喘和慢性支气管炎疾病的治疗。有 3 种基本类型的气雾剂产品: 含抛射剂的定量气雾剂、干粉吸入剂及喷雾剂<sup>[33]</sup>。由于作为抛射剂的含氯氟烃 CFC 消耗臭氧而造成的温室效应, 所以近年来对干粉吸入剂的关注增多。

在干粉吸入剂中, 赋形剂主要用作活性成分的载体 (表 3), 干粉吸入剂的性能与气雾装置与粉末处方有关。为产生可吸入的气雾粉末, 粉末的处方必须满足两个相反的条件: 粒子要足够细 (即  $<7\mu\text{m}$ ) 以利于在肺部沉积, 又要足够粗以利于在装置中有最优的流动和胶囊的填充及排空。为此, 药物必须与粗的惰性辅料载体结合<sup>[34]</sup>。

表 3 用于干粉吸入剂的一些赋形剂

活性成分	赋形剂载体	文献
硫酸沙丁胺醇	乳糖 ( $63\sim 90\mu\text{m}$ ): 一般的、喷雾干燥的、重结晶的	[34]
布地奈德	乳糖 ( $\alpha$ -一水合物 $<32\mu\text{m}$ , $63\sim 90\mu\text{m}$ , $125\sim 180\mu\text{m}$ )	[39]
rhDNase	乳糖 ( $50\text{ wt}\% <42$ 和 $115\mu\text{m}$ ) 甘露酸 ( $50\text{ wt}\% <43\mu\text{m}$ ) 氯化钠 ( $50\text{ wt}\% <87\mu\text{m}$ )	[38]
牛血清球蛋白-麦芽糖, 糊精 ( $50\sim 50$ )	乳糖 ( $\alpha$ -一水合物) ( $63\sim 90\mu\text{m}$ ) 细粒乳糖 ( $76\text{ wt}\% <10\mu\text{m}$ ) 微粉化聚乙二醇 6000 ( $97.5\text{ wt}\% <10\mu\text{m}$ )	[40]
重组人粒细胞刺激因子-甘露醇	聚乙二醇 8000 ( $38\sim 75\mu\text{m}$ , $90\sim 125\mu\text{m}$ )	[41]

因此, 使用赋形剂载体的主要目的是增加药物粉末的流动性。赋形剂载体是大的粒子 ( $>50\mu\text{m}$ ), 不会被吸入至肺部。但它可提供细小药物粉末吸附的表面 (图 1), 形成相互作用的粉末混合物, 它的流动性要比单独的药物好。当气流吹动该粉末时, 细小的药物从载体上脱落而被吸入。理想的药物-载体系统是: 药物吸附到载体上应有足够的强度, 在混合操作、填充和储藏时不会从载体上脱落, 但其强度又不能阻止吸入时药物粒子从载体上脱落。

使用赋形剂的另一个目的是载体可改善药物微粒在粉雾中的利用度, 赋形剂的表面结构起了很大的作用。止喘药物硫酸沙丁胺醇用重结晶乳糖为载体, 其所附细粒的分量显著地高于用普通的或喷雾干燥乳糖的制品, 这是由于重结晶乳糖的表面粗糙度较低<sup>[35]</sup>。另一种止喘药物沙美特罗 Xinafoate, 用乳糖作为载体得到细粉部分多于用蔗糖或喷雾干燥的山梨糖醇作为载体得到的细粉部分<sup>[36]</sup>。这些结果表明使用适宜的赋形剂作载体, 仅以较小的吸气即可在粉雾中产生所需量的药物细粒。rhDNase 是美国 FDA 第一个批准吸入剂治疗胆囊纤维化的蛋白质药物。当其用赋形剂乳糖、甘露糖醇或氯化钠为载体时, 粉雾中的细粒

增加了 2 倍<sup>[38]</sup>, 这与赋形剂的种类、相对用量无关。

除表面结构外, 赋形剂的粒径对细粒的产生也起很重要的作用, 如布地奈德, 用小粒径 ( $<32\mu\text{m}$ ) 的乳糖作载体时, 细粒药物的分量最高<sup>[39]</sup>。此外, 有报道细粒赋形剂如细粒乳糖或聚乙二醇能改善以之为载体的蛋白质干粉吸入剂的性质<sup>[40]</sup>。也有报道载体改善了粉雾剂总粉末的释出量, 但却减少了在粉雾中活性药物粉末的比例<sup>[41]</sup>。赋形剂必须是物理稳定的, 将其作为药物载体选择时, 其重要的物理化学性质的讨论见文献 [42]。

除了作为载体外, 赋形剂与活性成分一起喷雾干燥时, 能增加粉雾剂性能。此时, 赋形剂与药物共存于同一粒子中而不是外附于药物的粒子上。如用氯化钠作为结晶性赋形剂, rhDNase 在粉雾剂的细粒部分与赋形剂的量呈线性增加<sup>[38]</sup>, 增加量与图 2 中粉末的结晶度相关。

如本章开头指出, 赋形剂不是活性成分, 必须是生理惰性的。但用于气喘患者支气管刺激试验<sup>[43,44]</sup>以及对正常人和气喘者<sup>[45,46]</sup>的黏膜纤毛的清除性粉雾剂的赋形剂, 在这两例却均作为特殊活性成分来使用。该赋形剂是渗透剂, 如氯化钠和甘露醇, 以改变呼吸道液体的渗透压, 增强肺

部清除的生理效应和在高敏感患者中的支气管收缩作用。

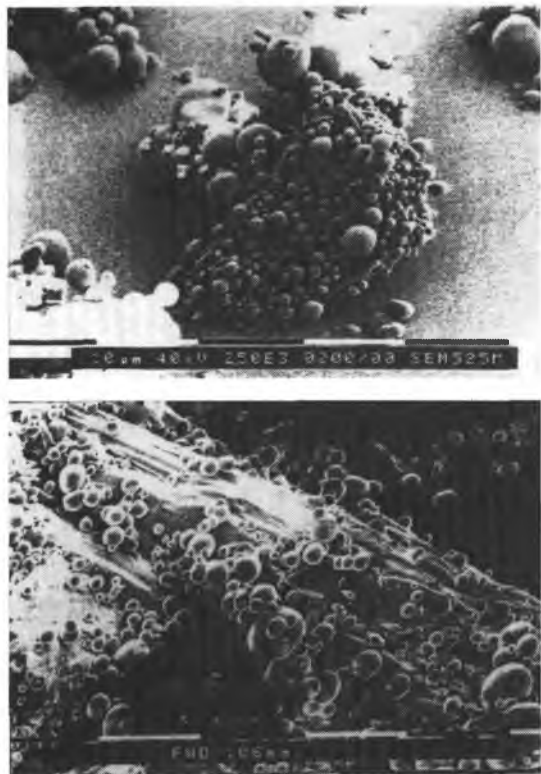


图1 赋形剂作为药物粒子载体的例子扫描电镜显示 rhDNase 的粒子黏附在乳糖 (上图) 和甘露醇上 (下图)

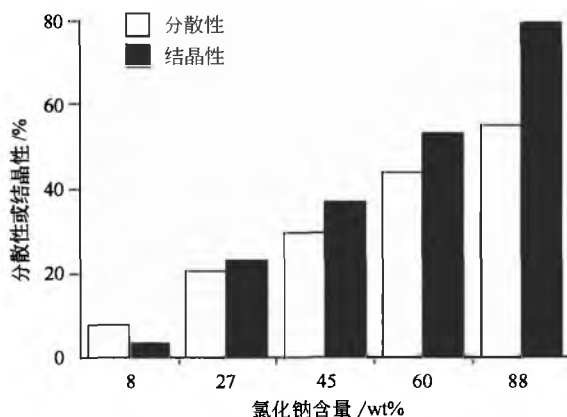


图2 rhDNase 与各种量氯化钠粉末的分散性 (在喷雾中 小于  $7\mu\text{m}$  的粒子的含量) 或结晶性 (由 X 射线粉末衍射 得出) 的关系

## 喷雾干燥粉末用赋形剂

喷雾干燥是将药物溶液喷成细滴, 在热气流中干燥形成干粉的过程<sup>[47]</sup>, 喷雾干燥粉末的性质取决于该过程及处方<sup>[48]</sup>。在该过程中, 活性物质受到喷雾时机械剪切力和

高温气体热应力的影响。由于喷雾粒子的暴露表面积相当大, 药物将发生氧化降解和表面失活。赋形剂可作为稳定剂或保护剂来避免活性成分的降解。解热镇痛药氨基比林的自氧化作用可由赋形剂 (如抗氧化剂、螯合剂、陶土<sup>[49,50]</sup>) 来排除。模型蛋白 ( $\beta$ -半乳糖苷酶) 可用海藻糖作为赋形剂来防止失活<sup>[51]</sup>。蔗糖可减少氧合血红蛋白在喷雾干燥时降解产物高铁血红蛋白的生成<sup>[52]</sup>。重组人生长素 (rhGH) 在喷雾干燥时因表面失活发生聚集降解, 可用表面活性剂多乙氧基醚-20 来稳定<sup>[53]</sup>。乳糖可用来避免喷干的 rhDNase 在储藏时的聚集<sup>[54,55]</sup>。氯化钠与 rhDNase 一起喷干时可增加其分散性, 制成吸入粉雾剂<sup>[38]</sup>。

胶态硅可增加喷雾干燥氨基比林-巴比妥粉末的流动性<sup>[49]</sup>。相反, 含有明胶和聚乙烯醇赋形剂的水杨酸喷干粉末流动性差<sup>[56]</sup>。阿拉伯胶和聚乙烯醇可避免水杨酸在喷干时的升华。维生素 E 乙酸酯与赋形剂一起喷雾干燥时, 会影响粉末的流动性和释放性质。羟丙纤维素可改善释放性质, Aerosil™ (胶态硅) 可增加流动性, 这两个物理参数之间达到平衡值时, HPC 与 Aerosil 的质量比为 6 : 1<sup>[57]</sup>。

胶态  $\text{SiO}_2$  虽然不能有效地保护维生素 C 的氧化分解, 但可增加喷干粉末的产量<sup>[58]</sup>。

对多晶型化合物如磺胺类药物, 滑石粉赋形剂能诱导在用喷雾干燥制备微囊操作中磺胺甲噁 (SMZ) 的多晶型转形<sup>[59]</sup>。喷雾干燥的水杨酸钠的粒径和真密度受黏合剂的影响<sup>[56]</sup>, 喷干的甲苯磺丁脲粒子中药物的分布与所用崩解剂有关。用低取代的 HPC 时, 药物分布在整个粒子中, 而用预胶化淀粉时仅沉积在表面<sup>[60]</sup>。

苯二甲酸二丁酯作为增塑剂, 用在喷干法制备茶碱和磺胺二甲噁啉的控释微球中<sup>[61]</sup>; 枸橼酸作为增塑剂, 用于喷干法制备茶碱 CMC-Na、HPMC 的微球中<sup>[62]</sup>, 与聚乙二醇和甘油作为增塑剂的比较发现, 枸橼酸使微球中的茶碱的释放速率最慢, 而柠檬酸三乙酯最快。

## 控释固体制剂用的赋形剂

高分子赋形剂常作为药物芯外的微囊包衣或作为药物分散的基质 (matrix) 以达到控释的作用。根据释药模式需要, 高分子赋形剂传统上分为亲水性和疏水性两类。代表性的包衣材料有亲水性树脂 (明胶、淀粉、PVP、水溶性纤维素)、疏水性树脂 (聚甲基丙烯酸、硅胶、水不溶性纤维素)、蜡、类脂 (石蜡、蜂蜡、硬脂酸)、肠溶树脂 (虫胶、邻苯二甲酸醋酸纤维)<sup>[63]</sup> (关于控释系统的高分子材料详见本书原著第一版“控释系统的生物聚合物”)。本章仅介绍在生物制剂中一些近期应用的赋形剂。

轮状病毒活疫苗已被开发成口服给药, 以预防儿童的病毒感染<sup>[64]</sup>。但将轮状病毒活疫苗加入到 PLGA 微球或藻酸盐微囊中会显著地减少轮状病毒的传染力。用纤维素、淀粉、蔗糖及明胶以质量比 30 : 30 : 30 : 10 与轮状病毒疫苗混合, 可制得颗粒或片剂使之稳定<sup>[64]</sup>。

转移生长因子 (TGF- $\beta$ ) 是对抗由细胞周期特异性药

## F

物引起的毒性的细胞保护剂,被微囊化包在藻酸盐的小珠中,作为可能的口服给药系统,在胃肠道中释放 TGF- $\beta$ 。但 TGF- $\beta$  会与阻止蛋白质释放的藻酸盐反应,加入聚阴离子聚丙烯酸赋形剂可以保护 TGF- $\beta$  使之不与藻酸盐反应<sup>[65]</sup>。

浓度大于 10% 的葡萄糖有助于微囊化的环孢菌素 A 用可生物降解的聚- $\Sigma$ -己内酯制成的冻干纳米粒充分地复溶<sup>[66]</sup>。葡萄糖和海藻糖同样也是非常有效的冻干过程的防冻剂,海藻糖还用于固体脂质纳米粒的喷干制备<sup>[67]</sup>。

在聚酯微球中的破伤风疫苗微囊用于一次注射免疫<sup>[68,69]</sup>,该蛋白质疫苗包入微囊的效果可因赋形剂(如海藻糖和  $\alpha$ -羟丙基环糊精)共微囊化来显著地提高,但这些赋形剂对疫苗并无稳定作用,而牛血清球蛋白是注射后蛋白质的很好的稳定剂。

应该指出的是报道的赋形剂对制剂稳定作用有些是在体外而不是在体内。但是在干态蛋白质保持天然结构程度可能与在体内的多聚物控释给药装置内“被湿润的”固体的稳定性不相关。破伤风疫苗在 1:5 [赋形剂(克):蛋白质(克)] 的氯化钠、山梨醇或聚乙二醇时,其结构改变的程度与由水分诱导的聚集稳定性无关<sup>[70]</sup>。

表面活性剂和 PEG 赋形剂用于大分子的微囊化能起到多种效果。如吐温 20 在临界胶囊浓度时以及在蛋白质:表面活性剂摩尔浓度比为 1:0.018 或更大时,能增强  $\beta$ -乳球蛋白在 PLGA 微球中的包囊效果<sup>[71]</sup>。增加吐温 20 的浓度从而大量减少微球中的孔道和小孔,因而可减少突释效应。对于基因治疗,在微囊化时加入的表面活性剂显著地改善包合在微球中的生物物质的释出。例如,PVA 可增加腺病毒从 PLGA 微球中的释放<sup>[72]</sup>。PEG 400 已用于改善在采用复乳法制备神经生长因子(NGF)微囊过程中的蛋白质稳定性,这是因为在操作过程中减少了与有机溶剂接触的缘故。此外,在微囊化过程中,NaCl 的存在能改变微囊结构,从而减少 NGF 的突释<sup>[73]</sup>。

## 赋形剂和处方不相容性

在处方设计时,一些赋形剂可能与活性成分或其他赋形剂不相容。事实上赋形剂的配位禁忌问题已有广泛的报道,时间可追溯到 20 世纪 50 年代中期。如片剂赋形剂乳糖通过它的醛基与具有伯<sup>[1]</sup>、仲胺<sup>[74]</sup>的药物产生 Maillard 型缩合反应,另一种糖类如山梨醇在相对湿度大于 65% 时会吸湿,在制造时必须避免高湿。钙盐是另一种广泛使用的片剂赋形剂,但碳酸钙因与酸或酸性药物发生酸碱反应而被禁用。钙盐会与四环素生成四环素-钙复合物。各种赋形剂的禁忌和反应性可参考文献 [1]。对于赋形剂的不相容性,通常在加速条件下或用热分析如差热扫描分析来研究。但快速研究结果会产生误导,因此其价值是有限的<sup>[75]</sup>。

除了直接的赋形剂-药物反应外,赋形剂还会通过水分分配间接地降低活性成分的稳定性。残留的水分会影响固

体制剂和粉末剂的稳定性为已知事实<sup>[76]</sup>。头孢噻吩钠、苄基青霉素钾在冻干制剂中的分解,部分原因就是由于赋形剂结合的水的影响<sup>[4]</sup>,头孢噻吩钠的降解速率随赋形剂玉米淀粉及纤维素的水分含量增大而增大<sup>[77]</sup>,该结果与水在所用赋形剂中的迁移性有关<sup>[4,77]</sup>。通过不同赋形剂对抗疟药甲氟喹盐酸盐的固体转晶的影响发现微晶纤维素促使其从 E 型转至 D 型<sup>[78]</sup>,但甲基纤维素、羟乙基纤维素、 $\beta$ -环糊精、交联 PVP 以及水合乳糖无作用,再一次说明赋形剂的吸水特性差异的影响。阿司匹林用含水分 8% 的蔗糖作稀释剂配方,不会引起稳定性的问题<sup>[79]</sup>,因为处方中存在于赋形剂中的水不足以与阿司匹林反应。因此处方中赋形剂结合水的可利用度可用来操控活性成分的水合速率,如吡喃妥因用结晶乳糖最快,而用微晶纤维素为最慢<sup>[80]</sup>。甲基脱氢皮质醇琥珀酸钠的水解速率,当用甘露糖醇共冻干时比乳糖要高<sup>[81]</sup>,这与甘露糖醇在处方中的结晶速率以及它随之在固体中水的分配效应有关。赋形剂防止重组人球蛋白聚集作用的效能同样与赋形剂的吸水能力有关<sup>[27]</sup>。

赋形剂介入的固体和粉末制剂中的水的分配引起的不稳定已由赋形剂的物理性质<sup>[21,82~84]</sup>说明。结晶性物质在到达湿解点之前不吸收水分,相比而言,无定形赋形剂会吸收水分直至其玻璃转化温度降至室温以下,此时分子的移动度增大,该赋形剂结晶将所吸收的水分从晶格排出。在发生结晶以前这些赋形剂就如缓冲剂或吸附剂,保持着过量的水分,根据水的活性可能不与主药作用,而保护了由水分介入的分解,但当赋形剂结晶时,其排出的水分将引起反应使药物不稳定。

## 结论

赋形剂无活性,是制备所需固体制剂必不可少的成分。本章讨论了赋形剂在片剂、胶囊、冻干剂、喷雾干燥粉末以及粉雾剂中的重要作用,关于赋形剂在生物制剂的控释处方中的某些最新应用也有重点叙述。最后,考虑由赋形剂导致的不相容性,强调赋形剂是通过水分分配发挥间接作用的。

## 参考文献

1. Wade, A., Weller, P. J., Eds.; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Ed.; American Pharmaceutical Association; Washington DC, 1994.
2. Bandelin, F. J. Compressed Tablets by Wet Granulation. Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, 2nd Ed.; Lieberman, H. A., Lachman, L., Schwartz, J. B.; Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 1.
3. Pikal, M. J. Freeze-Drying of Proteins. Part I: Process Design. BioPharmacology 1990, 18—27.
4. Oguchi, T.; Yamashita, J.; Yonemochi, E.; Yamamoto, K.; Nakai, Y. Effects of Saccharides on the Decomposition of Cephalothin Sodium and Benzylpenicillin Potassium

- in Freeze-Dried Preparations. *Chem. Pharm. Bull.* 1992, 40, 1061–1063.
5. Williams, N. A.; Guglielmo, J. Thermal Mechanical Analysis of Frozen Solutions of Mannitol and Some Related Stereoisomers: Evidence of Expansion During Warming and Correlation With Vial Breakage During Lyophilization. *J. Parenteral Sci. Technol.* 1993, 47, 119–123.
  6. Pikal, M. J. Freeze-Drying of Proteins. Part II: Formulation Selection. *BioPharmacology* 1990 October, 26–30.
  7. Crommelin, D. J. A., Sindelar, R. D., Eds.; *Pharmaceutical Biotechnology* Harwood Academic Publishers; The Netherlands, 1997; 72–74.
  8. Carpenter, J. F.; Pikal, M. J.; Chang, B. S.; Randolph, T. W. Rational Design of Stable Lyophilized Protein Formulations; Some Practical Advice. *Pharm. Res.* 1997, 14, 969–975.
  9. Arakawa, T.; Prestrelski, S. J.; Kenney, W. C.; Carpenter, J. F. Factors Affecting Short-Term and Long-Term Stabilities of Proteins. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1993, 10, 1–28.
  10. Quan, C.; Wu, S.; Hsu, C.; Canova-Davis, E. *Protein Sci.* 1995, 4 (suppl), 490T.
  11. Vemuri, S.; Yu, C.-D.; Roosdorp, N. Effect of Cryoprotectants on Freezing, Lyophilization and Storage of Lyophilized Recombinant Alpha<sub>1</sub>-Antitrypsin Formulations. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1994, 48, 241–246.
  12. Frank, F. Long-Term Stabilization of Biologicals. *Biotechnology* 1994, 12, 253–256.
  13. Izutsu, K.; Yoshioka, S.; Terao, T. Decreased Protein-Stabilizing Effects of Cryoprotectants Due to Crystallization. *Pharm. Res.* 1993, 10, 1232–1237.
  14. Pikal, M. J.; Dellerman, K. M.; Roy, M. L.; Riggins, R. M. The Effects of Formulation Variables on the Stability of Freeze-Dried Human Growth Hormone. *Pharm. Res.* 1993, 8, 427–436.
  15. Carpenter, J. F.; Prestrelski, S. J.; Dong, A. Application of Infrared Spectroscopy to Development of Stable Lyophilized Protein Formulations. *Eur. J. Pharmacol. Biopharmacol.* 1998, 45, 231–238.
  16. Chan, H.-K.; Ongpipattanakul, B.; Au-Yeung, J. Aggregation of Rh DNase Occurred During the Compression of KBr Pellets Used for FTIR Spectroscopy. *Pharm. Res.* 1996, 13, 238–241.
  17. Hageman, M. J. Water Sorption and Solid-State Stability of Proteins. *Stability of Protein Pharmaceuticals*, Part A; Ahern, T. J., Manning, M. C.; Eds.; Plenum Press; New York, 1992; 273–309.
  18. Hsu, C. C.; Ward, C. A.; Pearlman, R.; Nguyen, H. M.; Yeung, D. A.; Curley, J. G. Determining the Optimum Residual Moisture in Lyophilized Protein Pharmaceuticals. *Dev. Biol. Standard* 1992, 74, 255–271.
  19. Yoshioka, S.; Aso, Y.; Kojima, S. Determination of Molecular Mobility of Lyophilized Bovine Serum Albumin and (γ-Globulin by Solid-State <sup>1</sup>H NMR And Relation to Aggregation-Susceptibility). *Pharm. Res.* 1996, 13, 926–930.
  20. Separovic, F.; Lam, Y. H.; Ke, X.; Chan, H.-K. A Solid-State NMR Study of Protein Hydration and Stability. *Pharm. Res.* 1998, 15, 1816–1821.
  21. Chan, H.-K.; Au-Yeung, J. K.-L.; Gonda, I. Water Distribution in Freeze-Dried Solids Containing Multiple Components. *Pharm. Res.* 1996, 13 (suppl), S-216.
  22. Katakam, M.; Banga, A. K. Aggregation of Insulin and Its Prevention by Carbohydrate Excipients. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1995, 49, 160–165.
  23. Bush, L.; Webbs, C.; Bartlett, L.; Burnette, B. The Formulation of Recombinant Factor IX; Stability, Robustness, and Convenience. *Sem. in Hematol.* 1998, 35 (suppl 2), 18–21.
  24. Luckel, B.; Bodmer, D.; Helk, B. A Strategy for Optimizing the Lyophilization of Biotechnology Products. *Pharm. Sci.* 1997, 3, 3–8.
  25. Chang, S. B.; Beauvais, R. M.; Dong, A.; Carpenter, J. F. Physical Factors Affecting the Storage Stability of Freeze-dried Interleukin-1 Receptor Antagonist; Glass Transition and Protein Conformation. *Arch. Biochem. Biophys.* 1996, 331, 249–258.
  26. Jang, J. W.; Kitamura, S.; Guillory, J. K. The Effect of Excipients on Glass Transition Temperatures for FK 906 in the Frozen and Lyophilized States. *PDA J. Pharm. Sci. Tech.* 1995, 49, 166–174.
  27. Costantino, H. R.; Langer, R.; Klivanov, A. M. Aggregation of a Lyophilized Pharmaceutical Protein, Recombinant Human Albumin; Effect of Moisture and Stabilization by Excipients. *Biotechnology* 1995, 13, 493–496.
  28. Prestrelski, S. J.; Arakawa, T.; Carpenter, J. F. Separation of Freezing-and Drying-Induced Denaturation of Lyophilized Proteins Using Stress-Specific Stabilization. II. Structural Studies Using Infrared Spectroscopy. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993, 303, 465–473.
  29. Ford, A. W.; Dawson, P. J. The Effect of Carbohydrate Additives in the Freeze-Drying of Alkaline Phosphatase. *J. Pharm. Pharmacol.* 1993, 45, 86–93.
  30. Bell, L. N.; Hageman, M. J.; Muraoka, L. M. Thermally Induced Denaturation of Lyophilized Bovine Somatotropin and Lysozyme As Impacted Moisture and Excip-

F

- ients. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 707—712.
31. Heller, M. C.; Carpenter, J. F.; Randolph, T. W. Protein Formulation and Lyophilization Cycle Design: Prevention of Damage Due to Freeze-Concentration Induced Phase Separation. *Biotechnol. Bioeng.* 1999, 63, 166—174.
32. Kreilgaard, L.; Frokjaer, S.; Flink, J. M.; Randolph, T. W.; Carpenter, J. F. Effects of Additives on the Stability of Recombinant Human Factor XIII During Freeze-Drying and Storage in the Dried Solid. *Arch. Biochem. Biophys.* 1998, 360, 121—134.
33. Clark, A. R. Medical Aerosol Inhalers: Past, Present, and Future. *Aerosol Sci. Technol.* 1995, 22, 374—391.
34. Ganderton, D. The Generation of Respirable Clouds from Coarse Powder Aggregates. *J. Biopharm. Sci.* 1992, 3, 101—105.
35. Kassem, N. M.; Ganderton, D. The Influence of Carrier Surface on the Characteristics of Inspirable Powder Aerosols. *J. Pharm. Pharmacol.* 1990, 42, 11.
36. Mackin, L. A.; Rowley, G.; Fletcher, E. J. An Investigation of Carrier Particle Type, Electrostatic Charge and Relative Humidity on In-Vitro Drug Deposition from Dry Powder Inhaler Formulations. *Pharm. Sci.* 1997, 3, 583—586.
37. Cipolla, D. C.; Clark, A. R.; Chan, H. -K.; Gonda, I.; Shire, S. J. Assessment of Aerosol Delivery Systems for Recombinant Human Deoxyribonuclease. *STP Pharma. Sci.* 1994, 4, 50—62.
38. Chan, H. -K.; Clark, A. R.; Gonda, I.; Mumenthaler, M.; Hsu, C. Spray Dried Powders and Powder Blends of Recombinant Human Deoxyribonuclease (rhDNase) for Aerosol Delivery. *Pharm. Res.* 1997, 14, 431—437.
39. Steckel, H.; Muller, B. W. In Vitro Evaluation of Dry Powder Inhalers II: Influence of Carrier Particle Size and Concentration on in Vitro Deposition. *Int. J. Pharm.* 1997, 154, 31—37.
40. Lucas, P.; Anderson, K.; Staniforth, J. N. Protein Deposition from Dry Powder Inhalers: Fine Particle Multiplets As Performance Modifiers. *Pharm. Res.* 1998, 15, 562—569.
41. French, D. L.; Edwards, D. A.; Niven, R. W. The Influence of Formulation on Emission, Deaggregation and Deposition of Dry Powders for Inhalation. *J. Aerosol Sci.* 1996, 27, 769—783.
42. Byron, P. R.; Naini, V.; Phillips, E. M. Drug Carrier Selection Important Physicochemical Characteristics, Respiratory Drug Delivery V; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press: Illinois, 1996; 103—113.
43. Anderson, S. D.; Brannan, J.; Spring, J.; Spalding, N.; Rodwell, L.; Chan, H. -K.; Gonda, I.; Walsh, A.; Clark, A. R. A New Method for Bronchial Provocation Testing in Asthmatic Subjects Using a Dry Powder of Mannitol. *Am. J. Crit. Care Med.* 1997, 156, 758—765.
44. Chew, N. Y. K.; Chan, H. -K. Dispersion of Mannitol Powders As Aerosols; Influence of Particle Size, Air Flow and Inhaler Device. *Pharm. Res.* 1999, 16, 1098—1103.
45. Daviskas, E.; Anderson, S. D.; Brannan, J. D.; Chan, H. -K.; Eberl, S.; Bautovich, G. Inhalation of Dry Powder Mannitol Increases Mucociliary Clearance. *Eur. Respir. J.* 1997, 10, 2449—2454.
46. Brannan, J. D.; Anderson, S. D.; Koskela, H.; Chew, N. Responsiveness to Mannitol in Asthmatic Subjects With Exercise- And Hyperventilation-Induced Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998, in press, 158.
47. Masters, K. Spray Drying Handbook, 4th Ed.; Wiley & Sons: New York, 1985.
48. Wendel, S.; Celik, M. An Overview of Spray-Drying Applications. *Pharm. Technol.* 1997, ( Oct ), 124—156.
49. Kawashima, Y.; Lin, S. Y.; Ueda, M.; Takenaka, H.; Ando, Y. Direct Preparation of Solid Particulates of A minopyrin-Barbital Complex (Pyrabital) from Droplets by a Spray-Drying Technique. *J. Pharm. Sci.* 1983, 72, 514—519.
50. Kawashima, Y.; Lin, S. Y.; Ueda, M.; Takenaka, H. Preparation of Solid Particulates of Amino-Pyrene-Barbital Complexes (Pyrabital) Without Autooxidation by a Spray Drying Technique. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1983, 9, 285—302.
51. Broadhead, J.; Rouan, Edmond S. K.; Hau, I.; Rhodes, C. T. The Effect of Process and Formulation Variables on the Properties of Spray Dried Galactosidase. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46, 458—467.
52. Labrude, P.; Rasolomanana, M.; Vigneron, C.; Thirion, C.; Chaillot, B. Protective Effect of Sucrose on Spray Drying of Oxyhemoglobin. *J. Pharm. Sci.* 1989, 78, 223—229.
53. Mumenthaler, M.; Hsu, C. C.; Pearlman, R. Feasibility Study on Spray-Drying Protein Pharmaceuticals: Recombinant Human Growth Hormone and Tissue-Type Plasminogen Activator. *Pharm. Res.* 1994, 11, 12—20.
54. Clark, A. R.; Dasovich, N.; Gonda, I.; Chan, H. -K.

- The Balance Between Biochemical and Physical Stability for Inhalation Protein Powders: RhDNase As An Example. *Respiratory Drug Delivery V*, Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press; Illinois, 1996; 167-174.
55. Chan, H.-K.; Gonda, I. Solid State Characterization of Spray-Dried Powders of Recombinant Human Deoxyribonuclease (rhDNase). *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 647-654.
  56. Kawashima, Y.; Matsuda, K.; Takenaka, H. Physicochemical Properties of Spray-Dried Agglomerated Particles of Salicylic Acid and Sodium Salicylate. *J. Pharm. Pharmacol.* 1972, 24, 505-512.
  57. Takeuchi, H.; Hsasaki, T.; Niwa, H.; Hino, T.; Kawashima, Y.; Uesugi, K.; Kayano, M.; Miyake, Y. Preparation of Powdered Redispersible Vitamin E Acetate Emulsion by Spray-Drying Technique. *Chem. Pharm. Bull.* 1991, 39, 1528-1531.
  58. Moura, T. F.; Gaudy, D.; Jacob, M.; Terol, A.; Pauvert, B.; Chauvet, A. Vitamin C Spray Drying: Study of the Thermal Constraints. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1996, 22, 393-400.
  59. Takenaka, H.; Kawashima, Y.; Lin, S. Y. Polymorphism of Spray-Dried Microencapsulated Sulfamethoxazole With Cellulose Acetate Phthalate and Colloidal Silica, Montmorillonite, or Talc. *J. Pharm. Sci.* 1981, 70, 1256-1260.
  60. Takeuchi, H.; Handa, T.; Kawashima, Y. Enhancement of the Dissolution Rate of a Poorly Water-Soluble Drug (tolbutamide) by a Spray-Drying Solvent Deposition Method and Disintegrants. *J. Pharm. Pharmacol.* 1987, 39, 769-773.
  61. Palmieri, G. F.; Wehrle, P.; Stamm, A. Evaluation of Spray-Drying As a Method to Prepare Microparticles for Controlled Drug Release. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 1994, 20, 2859-2879.
  62. Wan, L. S.; Heng, P. W.; Chia, C. G. Citric Acid As a Plasticizer for Spray-Dried Microcapsules. *J. Microencapsulation* 1993, 10, 11-23.
  63. Baker, J. A. *Microencapsulation. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, 3rd Ed.; Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; Lea & Febiger: PA, 1986; 415-416.
  64. Duncan, J. D.; Wang, P. X.; Harrington, C. M.; Schaffer, D. P.; Matsuoka, Y.; Mestecky, J. F.; Compans, R. W.; Novak, M. J. Comparative Analysis of Oral Delivery Systems for Live Rotavirus Vaccines. *J. Controlled Release* 1996, 41, 237-247.
  65. Mumper, R. J.; Hoffman, A. S.; Puolakkainen, P. A.; Bouchard, L. S.; Gombotz, W. R. Calcium-alginate Beads for the Oral Delivery of Transforming Growth Factor-Beta1 (TGF-Beta1): Stabilization of TGF-Beta1 by the Addition of Polyacrylic Acid Within Acid-Treated Beads. *J. Controlled Release* 1994, 30, 241-251.
  66. Molpeceres, J.; Aberturas, M. R.; Chacon, M.; Berges, L.; Guzman, M. Stability of Cyclosporin-Loaded Poly-Sigma-Caprolactone Nanoparticles. *J. Microencapsulation* 1997, 14, 777-787.
  67. Muller, R. H.; Dingler, A.; Weyhers, H.; Muhlen, A. Zur; Mehnert, W. Solid Lipid Nanoparticles-A Novel Carrier Systems for Cosmetics and Pharmaceuticals. *Pharmazeutische Industrie* 1997, 59, 614-619.
  68. Johansen, P.; Men, Y.; Audran, R.; Corradin, G.; Merkle, H. P.; Gander, B. Improved Stability and Release Kinetics of Microencapsulated Tetanus Toxoid by Coencapsulation of Additives. *Pharm. Res.* 1998, 15, 1103-1110.
  69. Audran, R.; Men, Y.; Johansen, P.; Gander, B.; Corradin, G. Enhanced Immunogenicity of Microencapsulated Tetanus Toxoid With Stabilizing Agents. *Pharm. Res.* 1998, 15, 1111-1116.
  70. Constantino, H. R.; Schwendeman, S. P.; Griebenow, K.; Klibanov, A. M.; Langer, R. The Secondary Structure and Aggregation of Lyophilized Tetanus Toxoid. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85, 1290-1293.
  71. Rojas, J.; Pinto-Alphandary, H.; Leo, E.; Pecquet, S.; Couvreur, P.; Fattal, E. Optimization of the Encapsulation and Release of Beta-Lactoglobulin Entrapped Poly (DL-lactide-co-glycolide) Microspheres. *Int. J. Pharm.* 1999, 183, 67-71.
  72. Matthews, C. B.; Jenkins, G.; Hilfinger, J. M.; Davidson, B. L. Poly-L-Lysine Improves Gene Transfer With Adenovirus Formulated in PLGA Microspheres. *Gene Ther.* 1999, 6, 1558-1564.
  73. Pean, J.-M.; Boury, F.; Venier-Julienne, M.-C.; Meinel, P.; Proust, J.-E.; Benoit, J.-P. Why Does PEG 400 Coencapsulation Improve NGF Stability and Release from PLGA Biodegradable Microspheres. *Pharm. Res.* 1999, 16, 1294-1299.
  74. Wirth, D. D.; Baertshi, S. W.; Johnson, R. A.; Maple, S. R.; Miller, M. S.; Hallenbeck, D. K.; Gregg, S. M. Maillard Reaction of Lactose and Fluoxetine Hydrochloride a Secondary Amine. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 31-39.
  75. Monkhouse, D. C.; Maderich, A. Whither Compatibility Testing. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989, 15, 2115-2130.
  76. Zografi, G. Status of Water Associated With Solids.

- Drug Dev. Ind. Pharm. 1988, 14, 1905-1926.
77. Aso, Y.; Yoshioka, S.; Terao, T. Effect of the Binding of Water to Excipients As Measured by  $^2\text{H}$ -NMR Relaxation Time on Cephalothin Decomposition Rate. Chem. Pharm. Bull. 1994, 42, 398-401.
78. Kitamura, S.; Chang, L.-C.; Guillory, J. K. Polymorphism of Mefloquine Hydrochloride. Int. J. Pharm. 1994, 101, 127-144.
79. Snavely, M. J.; Price, J. C.; Jun, H. W. The Stability of Aspirin in a Moisture Containing Direct Compression Tablet Formulation. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19, 729-738.
80. Otsuka, M.; Matsuda, Y. The Effect of Humidity of Hydration Kinetics of Mixtures of Nitrofurantoin Anhydride and Diluents. J. Pharm. Bull. 1994, 42, 156-159.
81. Herman, B. D.; Sinclair, B. D.; Milton, N.; Nail, S. L. The Effect of Bulking Agent on the Solid-State Stability of Freeze-Dried Methylprednisolone Sodium Succinate. Pharm. Res. 1994, 11, 1467-1473.
82. Zografi, G.; Grandolfi, G. P.; Kontny, M. J.; Mendenhall, D. W. Prediction of Moisture Transfer in Mixtures of Solids; Transfer Via the Vapor Phase. Int. J. Pharm. 1988, 42, 77-88.
83. Saleki-Gerhardt, A.; Stowell, J. G.; Byrn, S. R.; Zografi, G. Hydration and Dehydration of Crystalline and Amorphous Forms of Raffinose. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 318-323.
84. Chan, H.-K.; Au-Yeung, K.-L.; Gonda, I. Development of a Mathematical Model for the Water Distribution in Freeze-Dried Solids. Pharm. Res. 1999, 16, 660-655.
85. Wade, A.; Weller, P. J.; Eds.; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Ed.; American Pharmaceutical Association; Washington, DC, 1994.
86. Lieberman, H. A.; Lachman, L.; Schwartz, J. B., Eds.; Pharmaceutical Dosage Forms; Tablets, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989.

(侯惠民 译)



## 粉末剂型

Jean-Marc Aiache

Erick Beyssac

Faculty of Pharmacy, Clermont-Ferrand, France

## 引言

粉末既是最简单的剂型又是其他固体制剂的基础,如片剂、胶囊等。很多药物或成分在加工前也是粉末。

粉末原来是设计作为一种服用坚硬植物药如根茎、树木等的方便形式,粉末也同样方便地用于分散不溶性化学物质,如甘汞、铋盐、汞和白垩。

以粉末形式允许将药物制成很细的分散状态,通过提高其溶出/吸收速率,能增加其治疗活性或药效<sup>[1,3-5]</sup>。粉碎的粉末可以使本来特别苦、恶心想或有令人不快味道的药物方便服用。

本文按给药途径、包装和储存条件描述从原料和成品制备粉末的过程。

## 背景

在所有的药物旧书中均有粉碎动物、植物、矿物和合成固体物质制成粉末剂型的介绍<sup>[1]</sup>。

这样的粉末可以以单方(单一粉末)或不同药粉混合物(复方粉末)服用<sup>[5]</sup>。最古老复方粉末称为“hiera picra”,为公元前500年使用的芦荟和白桂皮的混合物,有放松的功效<sup>[3]</sup>。大量含有芦荟作为主要成分的苦味粉末称为hiera。这些粉末收录于各种药典中,也一直收录于国家处方集(1926年生效)(直到第4版)中。

过去其他著名的粉末有<sup>[1-4]</sup>:

- 复方甘草粉末;
- 复方番泻树粉末;

• Dover粉末,18世纪由英国内科医生Thomas Dover发明的发汗剂,直到最近还收录于一些药典中;

• 白垩芳香粉末,一种简单化的复合糖膏剂,由Walter Raleigh爵士在监狱中发明,称为Confectio Raleghiana(1721年);

- Jame博士锑粉末,发热粉末(1747年申请专利);

• 塞得利兹粉末,一种泻药盐,由Thomas Savory在1815年发明并申请专利。他们将其价值归于德国塞得利兹泉的矿物性质(该泉水中含有硫酸镁)。

## 药物粉末制剂

根据欧洲药典,粉末是由固体、干燥可流动、或多

或少的细粒子制成的剂型。包括一种或多种活性组分,也可加入或不加辅料,若有必要还可加入着色剂和调味剂。

因此粉末制剂按如下步骤制备:

- 从原药(动物、植物、合成化合物)用不同方法粉碎制得原料细粉;
- 将不同的粉末混合,根据粉末性质(如流动性)加入或不加辅料;
- 如果必要可以改变其密度(通过制粒);
- 成品包装,方便患者使用。

## 原料粉末的获得

### 1. 简介

主要工艺是将大块物机械磨成不同大小的碎片(粗颗粒)<sup>[5]</sup>,为减小粒径,要再进行粉碎。粗粉碎的工艺包括切割、剥、粉碎、研磨、微粉化和捣碎,这取决于设备的类型和原药的来源(植物、合成或矿物)以及适合的粒径。由于这些操作会产生热,故有必要了解药物本身的一些理化特性,如:

- 液化温度;
- 熔点;
- 黏性;
- 热稳定性;
- 硬度;
- 含水量;
- 脆度。

物理破碎机理是:粉碎或磨碎形成小颗粒,使其具有新的自由表面积。这需要能量。在现有的知识下,不可能根据粉碎前后的粒径和物理性质(如脆度、弹性、黏度和塑性)准确确定所需的能量<sup>[9]</sup>。

有人提出几种基本的规律,以前进行过描述<sup>[10-13]</sup>。

### 2. 方法和设备

首先,为了减少污染和变质的风险,制药设备应采用不锈钢制成,容易拆卸和清洗。在装有除尘系统的密闭房间使用。

#### 2.1 粗粉碎

粗粉碎的设备见表1。

表 1 粗粉碎设备的不同操作

操作	定义	使用的设备
切割	得到粗碎片 (如植物药)	刀片
破碎	粗碎片的粉碎	研钵 (韦奇伍德装饰陶瓷, 瓷器, 玻璃, 铁器)
碾磨	通过两个表面摩擦而破碎物品	非不锈钢或不锈钢的网

表 2 不同粉碎操作及设备

操作	实验室规模设备	工业规模设备 <sup>1)</sup>
研磨	研钵, 研石, 切割磨, 筛网	Jaw 粉碎机 垂直和水平磨
液碾	液筒碾粉机	液筒碾粉机 (光滑或锯齿筒) 对转圆盘式破碎机 (直径 1~2mm) 切割磨 (直径 > 0.2mm) 锤式粉碎机 (可加入液氮或二氧化碳以降低碾磨温度和保护药物) 球磨机 (直径 < 2mm) (行星式、罐式或摆动磨) 微粉器或气流磨 (流能磨) (直径 1~10 $\mu$ m) 离心撞击粉碎机 (直径 0.05~2mm)

1) 所有设备均有介绍<sup>[13]</sup>。

## 2.2 粉碎

粉碎使粒径更小, 以下因素会影响设备的选择。

## 2.3 药物物理性质<sup>[13]</sup>

**硬度:** 硬物质要经过挤压、撞击和碾磨, 但对设备的磨损较严重。有些粉碎机磨损太广泛以至于严重污染产品。

**磨损性:** 以莫氏硬度表示: 1~3, 软物; 8~10, 硬物。

**弹性:** (略)。

**脆性:** (略)。

**纤维性:** 植物产品要剪碎或剁碎, 但不能采用加压和撞击技术<sup>[9,10]</sup>。

**水分:** 一些药典建议在粉碎前要烘干药物 (水分 < 5%) 以防液化和聚集 (40~45℃)。水合物在加工中会释放水, 要求冷却或低速处理。

**原料的粒径和期望的粒径减小程度:** 每个设备均有减小比率, 它能接受粒径在一定范围的材料, 并能制备出一定大小的颗粒。得到的粉末的粒径分布必须尽可能均匀, 以避免进一步处理大颗粒。因此, 有必要在同一台设备中联合使用碾磨设备和筛分设备, 比如筛网。大颗粒连续返回研磨机, 符合要求的颗粒出筛。这种机器适合敏感物质和防止过度研磨和产生过多的细粉。

**颗粒形态要求:** 不同设备产出不同的形态, 如表 2 所示。

**加工原料的量:** 所选的设备要有所需的容积, 可以连续或分步操作。必要时进行筛分, 将粗颗粒再次粉碎。必须注意以下的安全同系。

**噪声:** 所有设备设计安装于特定的隔音房间。

**毒性:** 由于粉尘在空气中扩散, 必须保护工人, 也要防止交叉污染。

## 3. 粉末特性

### 3.1 粒径

在药品注册文件和原料中所有这些数据都要说明, 因为会影响粉末作为成品剂型的生物利用度。

粒径可用以描述粉末的性质, 对于药物的最优生产很重要<sup>[9]</sup>。第一, 这些参数影响药物在体内的溶解度, 进而影响吸收速度和疗效的发挥。粒径在生产固体剂型时很重要, 如胶囊和片剂的生产。合适的设备通过填充体积控制物料和颗粒, 任何影响填充体积均匀性的因素都会改变制剂的加料, 如片剂或胶囊, 降低含量均匀度。不同大小的颗粒有不同的流动性和填充性, 从而改变每次的粉末体积。为避免这些问题, 在处方研究时要指定颗粒的大小, 并尽可能均匀<sup>[9]</sup>。

然而, 评价粉末的粒径并不容易。对于大块来说, 有可能测定其三维。但如果物料粉碎过了, 得到的颗粒不规则, 有不同数量的面, 测定超过一维就很困难也不现实<sup>[14]</sup>。因此将固体颗粒假设为球体, 用同球体的直径表示。测定基于假想的球, 只是对真实颗粒形状的近似。测定结果为颗粒的等价直径<sup>[14]</sup>。

对于给定的不规则颗粒形状, 有可能生成相当的多个球体, 可用于评价 Feret 或 Martin 统计学直径<sup>[12]</sup>, 取决于颗粒的方向和形状。Feret 直径是通过两个平行的切线至颗粒投影直径的平均距离计算, 而 Martin 直径是颗粒投影直径的平均弦长 (图 1)。除了球体等价直径外, 还可用等价体积、沉降体积、质量、筛目数测定粉末的粒径。

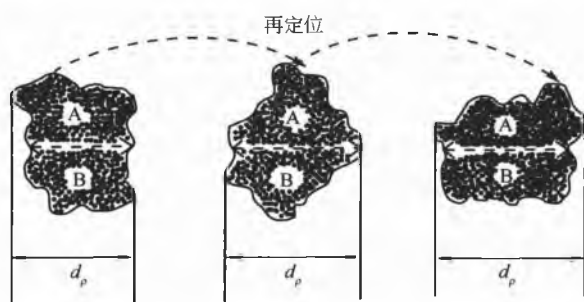


图1 颗粒方向对统计直径的影响。Feret 直径的变化以距离  $d_p$  表示, Martin 直径  $d_p$  相应于虚线

最后,因为粉末含有不同直径的颗粒,有必要用柱状图来表示测定的等价直径分布。这种柱状图可以表示粒径分布,可以确定一定等价直径的颗粒的百分数,并对不同粒径的颗粒进行比较[图2(a)]。另一种方式是连续加入百分数值[图2(b)],可以得到一个累积分布<sup>[14]</sup>。最后可以采用统计方式将得到数据进行汇总,以确定粒径<sup>[14]</sup>[图2(c)]。

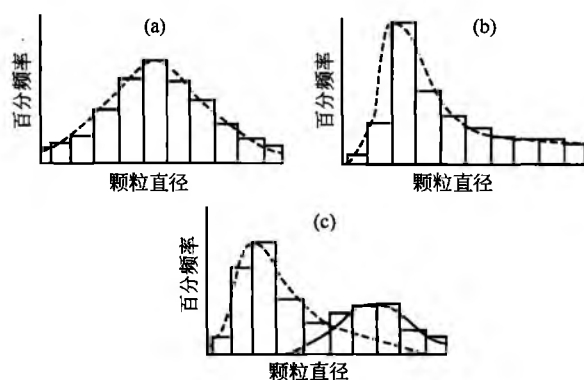


图2 频率分曲线相应于 (a) 正态分布; (b) 正向倾斜分布; (c) 双模式分布

最近,有人建议在粒径验证报告中包含以下项目<sup>[15]</sup>:

- 操作程序;
- 精密度;
- 范围(适用性评价,包括微观的比较);
- 可靠性。

检测限、定量限、准确度和特异性对于粒径方法学验证不常用。

提出这些建议的作者认为粒径测定技术的验证不能采用第一批产品完成,因为在该阶段的数据不足以完全验证该程序。了解第一批产品的绝对粒径并不总是很重要,但重要的是第二批和第三批结果与第一批相比如何。粒径测定方法的验证是有步骤的,第一批产品分析后能完成一部分,在注册申请前补充完善。设备的校准和确认是 GMP 的一部分,也可作为适应性评估<sup>[15]</sup>。

不同的粒径分析方法可分为几类:粒径范围分析(筛分法)、湿法或干法、手工或自动法(激光法)。所有这些方法在文献中都有介绍<sup>[16,17]</sup>。

### 3.2 流动性<sup>[18,19]</sup>

粉末流动性是混合和离析的重要参数,尤其是对储存。取决于生产和包装工艺,质量控制和优化处方需要不同流动性。

实际上粉末可以由一种或多种活性成分,加入或不加辅料进行混合,这种最终的混合物代表要包装和配发的剂型。在大部分情况下要加入辅料稀释活性成分,以改善包装性质,并确保患者的依从性(如掩味)。因此,辅料要具备以下性质:

- 优化粒径分布;
- 高流动性;
- 高压性;
- 最佳药物容量;
- 足够重复;
- 生理无活性;
- 抗热、抗湿和氧化;
- 无味。

混合物的流动性测定项目如下:

- 穿孔流动性;
- 休止角;
- 堆密度或叩密度;<sup>[18]</sup>
- 剪切池。

这些方法在所有的药典和文献中都有描述<sup>[20]</sup>。

## 得到的粉末作为剂型

如前所述,粉末剂型是由一种或多种药物粉末组成,通常含有辅料。因此所有组分的混合和该操作的验证都很重要。

### 1. 粉末的混合

混合的目的是得到均匀的各种固体的混合物。每个随机取样的部分必须与整个制剂含相同比例的所有组分<sup>[21]</sup>。因为不同的组分经过处理尽可能与每一种其他组合相接触,因此可以达到这个目的<sup>[22]</sup>。

混合被描述成随机的过程,借助固定的或非固定的 Markov 链实现<sup>[10]</sup>,颗粒从一处移动到另一处的可能性可以测定。

为了得到良好的混合,有必要考虑原料和混合物的性质、使用的设备以及操作的条件。混合工艺要进行验证(下文讨论)。

#### 1.1 影响混合的因素

为了避免离析,理想的办法是将性质相近的粉末混合。粒径大小是最重要的因素。通常所有的粉末应该具有相同的粒径。因此混合前要研磨和过筛以保证粒径相同。然而每种物质具有其自身的特性,相同的粒径并不意味着相同的形状和相同的其他性质。

## F

每种组分的密度都影响着混合物的稳定性。较重的组分趋向于沉到底部，而较轻的升到粉末床的顶部。

每个组分的量（比例）也是影响因素之一。如果某一种组分的比例很小，均匀性更难保证。少量的组分很好地均匀分布于整个混合物中很重要。例如，活性很强的组分用大量的辅料稀释，便于制备剂型和方便服用（着色剂也有相同的问题）。因此建议首先混合量少的组分，然后逐渐增加。也可以将量少的药物以挥发性溶剂的溶液形式加入到混合物中。混合后挥发溶剂。

有些混合物还需加入辅料，因此为混合氧化镁和炭，有必要使用乙醇或乙醚，这些溶剂在混合后挥发掉。

如果这些因素控制不好就会出现分离现象。粉末颗粒在混合中会分层，因为其路径取决于粒径和密度，这在旋转剪切混合器中会发生。离析也会发生在混合器的排空、出料、转运或储存。由于震动，所以有自由的空间使较密的颗粒能滑到容器的底部。颗粒的形状和大小也会促进这种离析，互相之间或多或少会滑动。对于细粉，密度差异比颗粒黏附和摩擦更重要。直径小于  $40\mu\text{m}$  的颗粒不会发生离析。离析有如下三种：

（1）渗透离析，小颗粒移动穿过静态的粉末床；

（2）混合中的轨道离析，颗粒在运动中获得动能。大颗粒的能量较大，在停止前运动距离更长，在水平和垂直方向均会发生离析；

（3）增稠离析，颗粒间的密度差异也会导致离析，大颗粒向上运动。似乎小颗粒在密度大的颗粒下面会被压紧，以支撑大颗粒。震动时，小颗粒向大颗粒下方运动，将大颗粒顶向粉末床的上方。

混合时间对于离析的影响是混合时间延长，非离析的混合物混合会更好，但离析的混合物则相反。

促使离析的因素需要较长时间形成离析混合，而这对于合理的混合也是必要的。因此延长混合时间超过最佳点会起到相反的作用。

## 1.2 设备

混合有三种主要的机理<sup>[10]</sup>：粉末床的大部分对流运动、主要减少离析程度的剪切失败、单个颗粒的扩散运动。

最有效的混合机以这三种机理运行。因此，混合可以看成是随机的洗牌操作，涉及大小颗粒群，甚至单个颗粒。

理想的混合机应能迅速实现完全的混合，而混合运动应尽可能轻柔，以避免损坏。应容易清洗和拆卸，无粉尘，维护少和低功耗。

**实验室仪器：**药剂师最常用研钵和杵，用于小规模混合进行处方调配。也经常使用抹刀和筛网。研钵和杵方法在单步操作中组合了粉碎和混合操作。

**工业机器：**转壳混合机或翻转混合机如图 3 所示。鼓型、立方型、双锥型、双壳混合机的转轴水平于鼓的中心，可以增加交叉流和改善混合作用。立方型的或多面体的混合机的转轴有一定的角度。有人发明了双锥混合器或翻转混合器，Y 形混合机是一个好例子<sup>[13]</sup>（图 3）。旋转时物料

流入 Y 形的上部两臂中，然后流回第三臂，因剪切和扩散引起混合。时间应该允许混合物流入臂，存在最优的转速。Z 字形混合机为双壳型混合机的改进型。

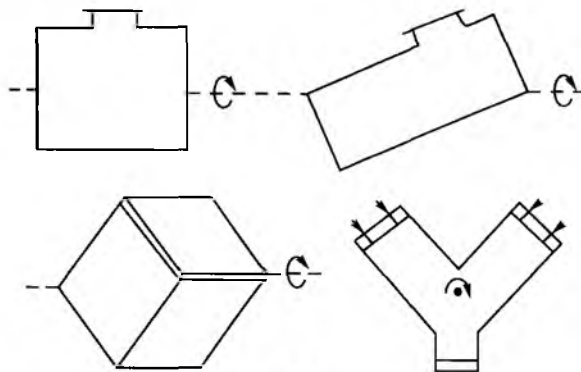


图 3 翻转混合机

固定壳混合机或搅拌混合机，也称为带状混合机（图 4），由相对较长的壳和半圆的底组成。壳上安装了轴，轴上固定了螺旋带、桨或螺旋状螺杆。这种混合桨通过在槽中从头到尾旋转物料，产生连续的切割和混合。桨相对于槽的剪切运动将聚集物打碎。最新的搅拌混合机是螺旋式混合机（图 5），由圆锥形的容器底部装有旋转的螺杆，螺杆上部固定于旋转臂端。螺杆将物料向上运动，再倾倒回粉末床。

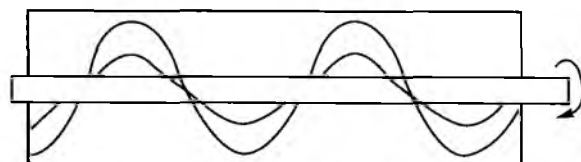


图 4 带状混合机

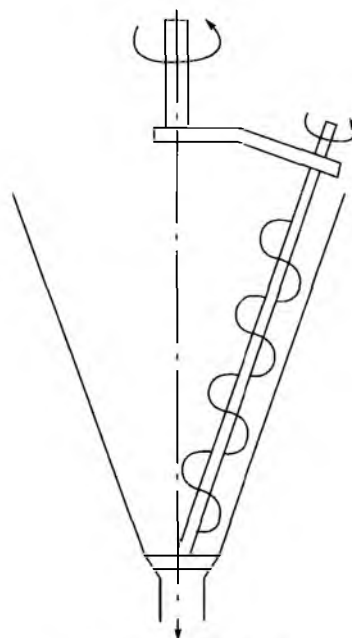


图 5 螺旋式混合机

Sigma-刀片混合机和行星状浆混合机用于固体混合，需在加入液体前使用（图6和图7）。这种混合机能快速打碎聚集物。

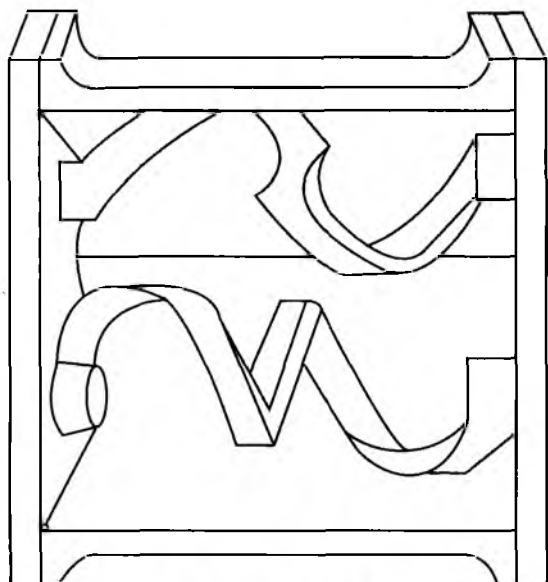


图6 Sigma-刀片混合机

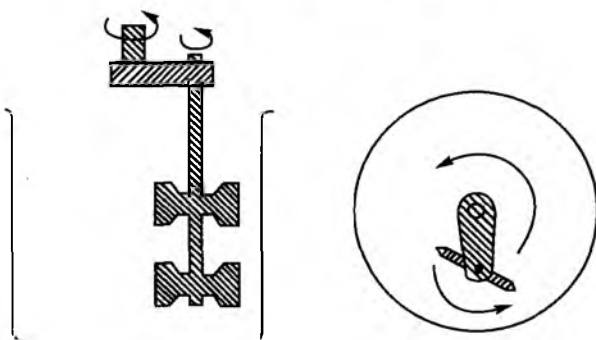


图7 行星状浆混合机

垂直的叶轮混合机使用螺旋状的叶轮，持续翻转物料。静止的混合机为连续工艺设备的一部分，没有运动部件，为一系列的固定扭曲流或分裂流元件。

## 2. 混合工艺的验证

通过检验混合粉末的均匀性而对混合工艺进行验证，如分别从混合机的上部、中部和底部取样，测定这些样品中不同活性物质的含量。每个样品的取样量要和拟使用的剂型一致。可以使用混合指数作为指标。

混合粉末的其他性质如粒径、味道、流速和叩实前后的堆密度均要加以检验。

工艺的重现性通过进行操作和检验三次进行评估。如果样品中的每个活性成分的量以及其他性质均在合格范围内，验证结果可以认为是正确的<sup>[22]</sup>。

## 粉末制剂分类及举例

按给药途径进行分类。

### 1. 口服给药

#### 1.1 给药方式和包装

通常用水或其他合适的液体分散后服用，有些甚至可以直接吞服，单剂量和多剂量包装的均有。

多剂量的粉末用金属盒包装，需要定量装置以输送给定的剂量。起初为普通的匙，但汤匙有各种不同的形状和大小，还有粉末密度、温度、沉降度、搅动引起的变松、患者的个人判断（根据患者的情绪选择半汤匙或一汤匙），因此决定用其他的装置。通常是特定的量匙，有刻度，根据粉末密度相当于一定质量的粉末（该体积相当于成人或儿童的剂量）。

目前，最好采用单剂量包在折叠纸中（公共药房）或用自动化机器像片剂或胶囊准确填充的小袋。小袋用纸、铝、和（或）铝塑复合物制成。用铝或箔纸覆盖在聚乙烯、PVC、PVDC的一侧或两侧（如纸+聚乙烯+铝+聚乙烯）。通常，箔纸以卷的形式，外侧印刷药物名，用自动化机器装配（图8），该机器使用预先画好小袋的一卷或两卷材料。首先，箔纸纵向分切并折叠，折叠的纸解卷，分切，制成预封的小袋。通过不同的装置加粉（图9），如微柱塞杆、真空加料、定容积滑动加料器、计量板（或可伸缩杯）、吸料装置以及用于流动性不好的装卸料漏斗。填充后，封袋（三边或四边封口），100~145℃，0.5s。填充过程中要控制质量。填充后要进行各种控制程序，如封口、箔纸完整性、易开封以及透气性和透湿性。这些控制对于箔纸和成品均要进行。

#### 1.2 改变粉末密度和流动性的辅料

为了良好的填充，粉末在整个填充时间必须是均匀的，流动性也要一致以获得相似的容积。通过前述的混合设备可以获得较好的均匀性。混合设备与填充机相连，如果混合时间延长，在最后一步要绝对避免不受控制的分层。

为了后一个目的，有必要了解粉末的流动性，通常要加入一些辅料以改变这些性质，使其适应填充设备。

使用的辅料通常为填充剂，但更重要的是润滑剂，如硬脂酸镁、PEG 6000、硬脂酸钙、硬脂酸棕榈酰甘油酯和山萘酸钙。它们能改善流动性，同时改变粉末的疏水性。润滑剂的选择取决于活性成分的相容性和粉末的流动性。辅料的性质以前已有描述。

有时，有必要通过制粒改变粉末的密度，制粒方法与片剂一致，采用旋转造粒机<sup>[23,24]</sup>。制粒有时是很必要的，采用矫味剂可以更方便地改善味道<sup>[25]</sup>。最近有一篇文献介绍了粉末混合物处理对掩味的作用<sup>[26]</sup>。



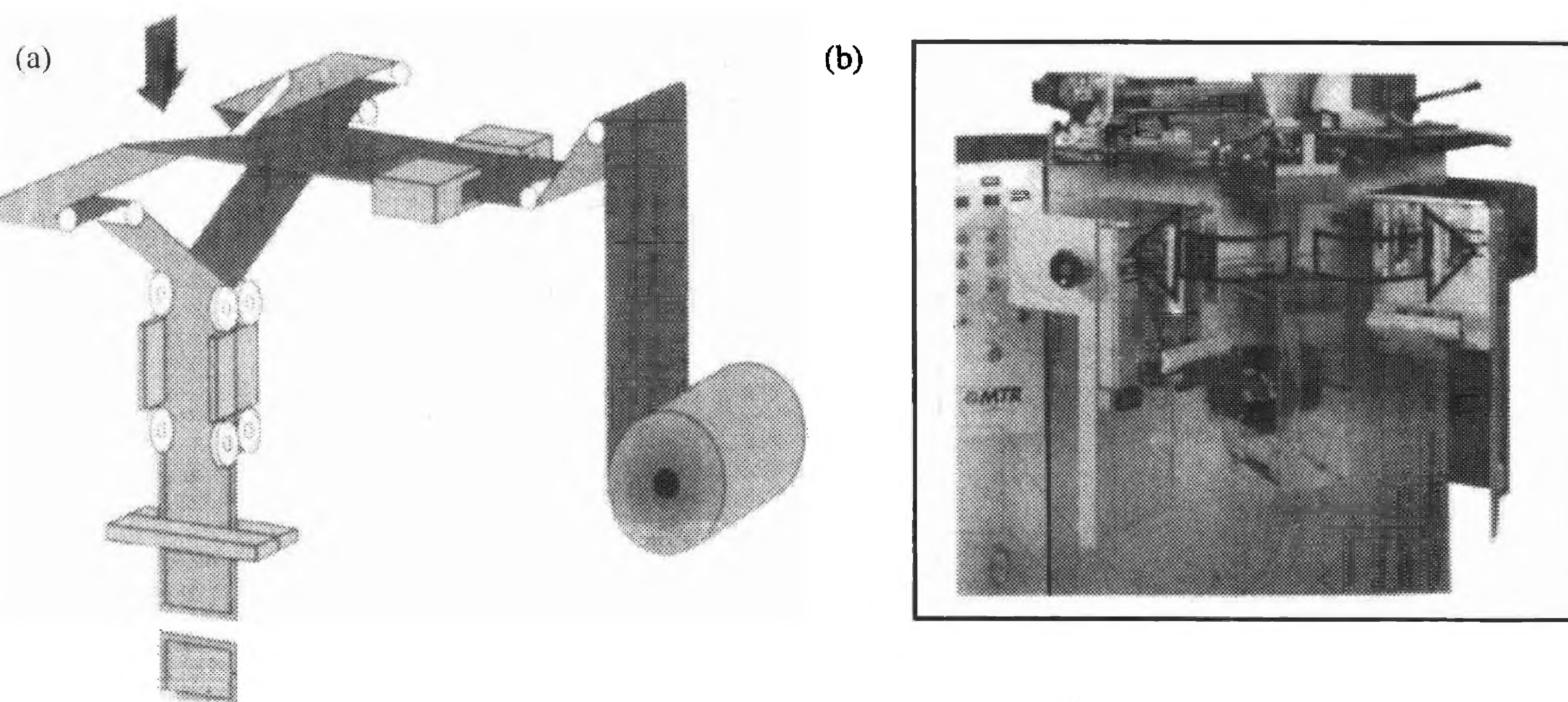


图8 (a) 铝箔制备和 (b) 多道垂直封袋机。可拆面板能打开 90°, 完全可以接触产品定量区、所需薄膜区和封口、分切区

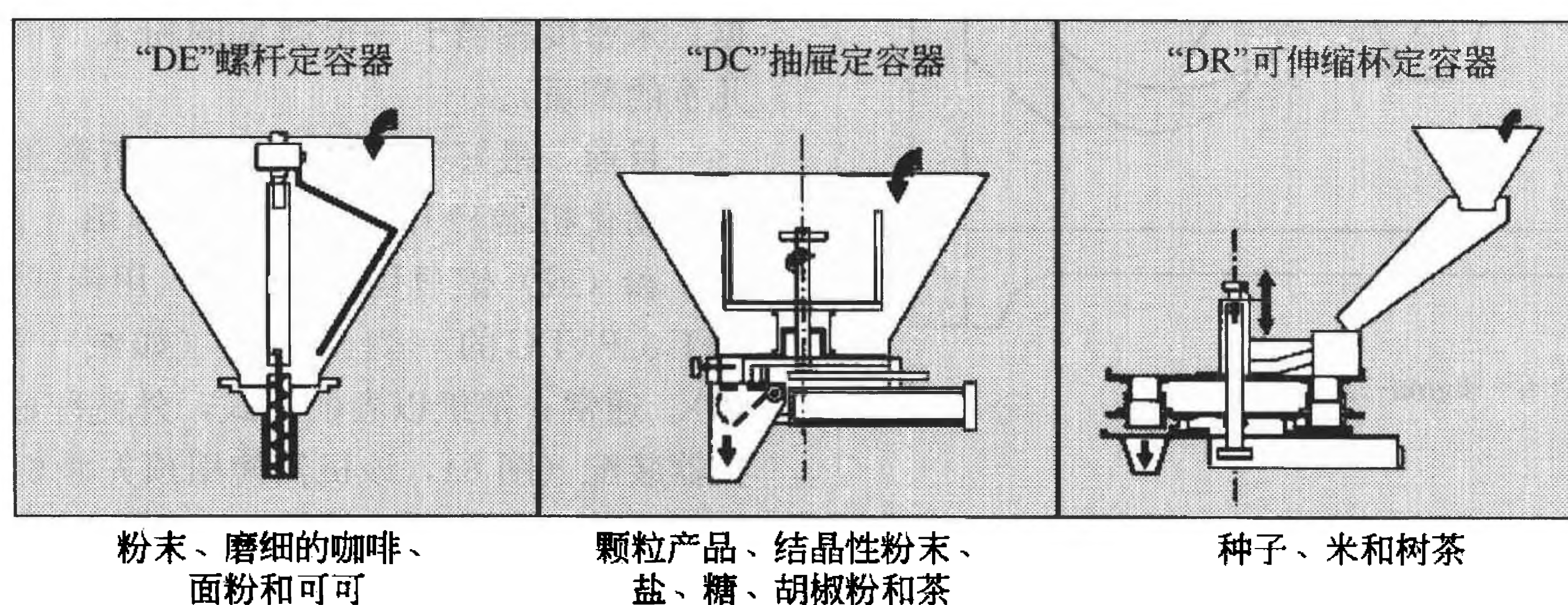


图9 不同的定容器

### 1.3 粉末作为剂型的例子

**泡腾粉末:** 起初药典中收录的这些粉末由碳酸氢钠、酒石酸、酒石酸钾钠（预先包装在白纸中）组成。每个组分分别溶于水中，再混合后服用，称为英国 Seidleitz 粉 (Seltz 或英国苏打粉也与之相似)<sup>[2]</sup>。

现在，泡腾粉末可以是单剂量也可以是多剂量，含有酸性成分、碳酸盐或碳酸氢盐，在水中迅速反应释放出二氧化碳。服用前溶解或分散于水中。这种剂型很有优势，因为药物在溶液中，pH 接近 7，可以快速通过幽门。药物从消化道的吸收以及起效时间也很快。泡腾粉末包括<sup>[27]</sup>：

#### (1) 酸性材料

**酸:** 一水或无水枸橼酸，酒石酸，维生素 C（药物或辅料），富马酸，烟酸，乙酰水杨酸（药物或辅料），苹果酸和脂肪酸（较少用）。

**酸酐:** 谷氨酸酐，枸橼酸酐。

**盐:** 枸橼酸二氢钠，磷酸钠，富马酸钠。

#### (2) 二氧化碳来源

**盐:** 碳酸氢钠（最常用），碳酸钠，碳酸钾，碳酸钙，碳酸甘氨酸钠<sup>[28]</sup>。

#### (3) 其他辅料（主要特性是水溶性）

**润滑剂:** PEG 6000 最常用，单独用或与富马酸硬脂酰

钠、氯化钠、醋酸钠或 D, L-亮氨酸一起使用。

**黏合剂:** PVP、氢化麦芽糖右旋糖酐、麦芽糖右旋糖酐和 PEG 6000。

**其他:** 甜味剂，矫味剂，着色剂，表面活性剂，消泡剂（聚二甲基硅油）。

生产过程需要保持很低的相对湿度（约 20%），室温接近 25°C。通常泡腾粉末用传统的湿法制粒，将酸和碳酸盐分别制粒，或用水-乙醇或异丙醇混合制粒。混合制粒时要特别注意防止泡腾反应，除非用转子制粒技术<sup>[29]</sup>。

泡腾粉末的稳定性和有效期主要通过隔离外部湿气而保证。单剂量的小袋用合适的复合膜制成，以防止外部的湿气或内部的制粒过程中的湿气引起的过早的反应。要进行不同环境中的特殊稳定性研究，溶解时间要小于 3min，这也是稳定性指示之一。

很多药物和药物组合物用于泡腾产品，如阿司匹林、对乙酰氨基酚、布洛芬、其他非甾体抗炎药、西咪替丁、抗生素、溶黏液药物、维生素等。已有许多证据表明泡腾制剂比常规制剂的吸收快，吸收更好<sup>[30,31]</sup>。

## 2. 非肠道给药粉末

对于非肠道给药，固体灭菌物质以最后的包装配送。与一定量的合适无菌溶剂振摇后应得到几乎无颗粒的均匀



的溶液。也可将药物冷冻干燥供注射用。在分散或溶解后制剂要符合注射剂或灌注液的分析要求。其制剂要求与注射制剂相同,如原材料的灭菌和成品的灭菌<sup>[32]</sup>。

### 3. 皮肤用粉末

这些是单剂量或多剂量的粉末制剂,无聚集颗粒。用于伤口和破损皮肤的必须无菌。

局部用的多剂量粉末(用于皮肤、牙齿或阴道冲洗)最好包装于网状和加压容器中。这些制剂是将固相(药物)分散在液体抛射剂(液相)中。启动致动器时气体压力将混悬剂释放出来。抛射剂与空气接触挥发掉,粉末留在治疗区域,其粒径取决于制备混悬剂时的粉末粒径。

有许多粉末采用这种特殊的剂型,如杀菌剂、抗真菌药以及化妆品制剂(干洗发香波等)。通常,药物与惰性稀释剂如淀粉、碳酸镁、硬脂酸镁、二氧化硅混合,稀释剂料粒径接近 50~60 $\mu\text{m}$ 。为了增加混悬液的稳定性,防止致动器的关闭,加入润滑剂和(或)表面活性剂(矿物油、肉豆蔻酸异丙酯、卵磷脂、脂肪酸山梨糖酯),最后一种材料还能防止药物的结块或结晶(用量 0.1%~1%)。

抛射剂是几年前的氯氟烷烃(CFC)(11和12),比例为 65:35 或 50:50。制造过程包括在冷却和密闭的混合器中在液体抛射剂 11 中加入药物和润滑剂,制成混悬剂。这种混合物被转入一个由特殊粉末阀门密封的罐中,抛射剂 12 通过阀门注入。阀门的上部有一个特殊孔,气相通过它清洁阀门及致动器。

当前主要的问题是由于臭氧的损耗而限制使用 CFC。其他液体抛射剂(134a、227、二甲醚)不如 CFC 容易使用,配方很难。所以,很多这种剂型会消失或者由盐瓶系统取代。易挥发溶剂,如挥发性硅油,如果其沸点接近室温可以建议使用<sup>[33]</sup>。由于乙烷易造成爆炸的危险,故不建议用。

### 4. 肺部给药用粉末

由于限制和减少使用 CFC 作为抛射剂,一种新的剂型

正在全球范围内开发:干粉吸入剂(DPI)。定量吸入剂(MDI)可能会被其取代。MDI 数年前进行了处方研究,药物粉末(粒径约 5 $\mu\text{m}$ )通过表面活性剂作用混悬在抛射剂 11 中,密封后抛射剂 12 再注入罐中。

定量阀喷出一定体积的混悬剂,抛射剂挥发后在上呼吸道释放活性药物。由于粒径小,约 10% 的药物会到达支气管和肺部,发挥疗效。

最近,抛射剂的问题使许多公司开发了 DPI。将很细的活性药物与无活性的赋性剂如乳糖混合。混合物通过特殊的装置给药。

十多年前上市的 Spinhaler (Fisons) (图 10) 和 Rotahaler (Allen 和 Hanbury) (图 11),用于输送单剂量的色甘酸钠、沙丁胺醇、丙酸倍氯米松粉末,分散所需的能量由患者吸入做功获得。Spinhaler 和 Rotahaler (Ciba 系统)使用均不便,因为要在使用前将含药的明胶胶囊置于装置内。但是,有很多多剂量的 DPI 上市。Diskhaler (Allen 和 Hanbury) 在圆盘的周围含有 8 个剂量的沙丁胺醇和(或)丙酸倍氯米松泡罩(通常用 2 天)。Diskus 更有意思,它含有 60 个剂量的平喘药,并有特殊的计数器,指明已输送的剂量数。Turbuhaler (Astra) (图 12) 含有 200 个剂量的支气管舒张药硫酸特布他林,与加压的 MDI 类似,但没有任何添加剂。在一些国家,皮质类固醇药物布地奈德也有干粉吸入剂(Turbuhaler)上市。

Clickhaler 是基于同样的原理:储库含有大量的剂量,启动一次释放一次。

似乎所有这些装置均使用方便,患者容易接受。据说它们能输送相似比例的药量至肺部,与正确使用的 MDI 有着相同的疗效。

然而,吸气速率低的患者(特别是儿童)使用上有很多困难,此外,当很快吸收颗粒时,其惯性增加,对喉部有冲击。因此有人开发了新的装置以提高患者的顺应性。该装置有一个能在一个腔室中压缩空气的泵,该压力使粉末以雾状喷出<sup>[35]</sup>,与旧的 MDI 接近。

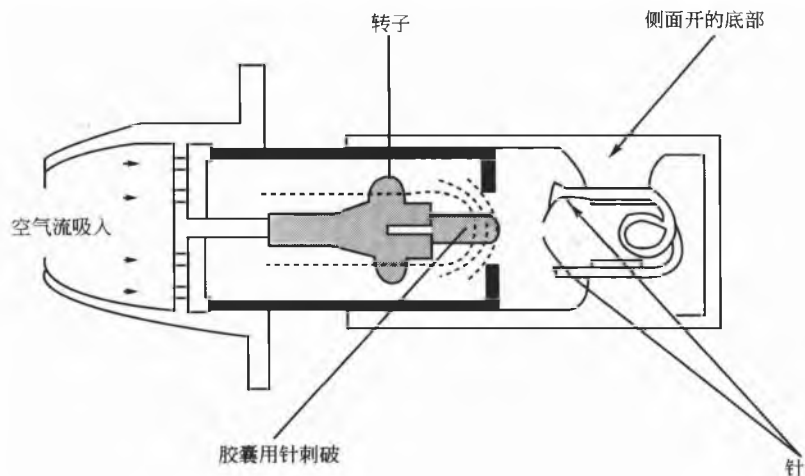


图 10 Spinhaler

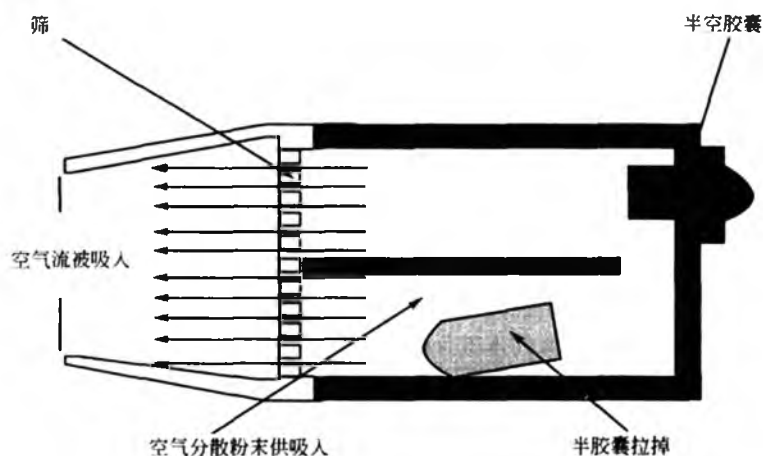


图 11 Rotahaler

## 结论

粉末剂型的制备包括很多步骤，与制备其他固体制剂的粉末相似，如片剂和硬明胶胶囊剂。

多年前粉末更频繁地作为一种剂型使用，直到出现了更现代的剂型。然而，这些新剂型中出现了生物制药学问题，很多公司回到粉末制剂并进一步开发。工业化小袋的生产显著降低了工作量并改善了储存。加压系统允许简单地分散消毒剂，这会增加患者的依从性。粉末有望在将来继续使用。

## 参考文献

1. Astruc, A. *Traité de Pharmacie Galénique*, 4th Ed.; Librairie Maloine, Paris, 1946.
2. Buerki, R. A.; Higby, G. J. *History of Dosage Forms and Basic Preparations*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 7, 299–338.
3. *Codex Medicamentarius, Pharmacopée Française*; Bechet Jeune; Paris, 1837.
4. *Codex Medicamentarius, Pharmacopée Française*; J. B. Baillière & Fils; Paris, 1866.
5. Henry, N. E.; Guibourt, C. R. *Traité de Pharmacie*; J. B. Baillière; Paris, 1847.
6. *Palestra Farmaceutica Chimico Galenica*; Madrid, 1706.
7. *Oficina Medicamentorum Valentiae MDCL*; Valence, 1601.
8. *Farmacopea Cathalana Sive Antidotarium Barcinonense*; Barcelona, 1686.
9. Le Hir, A. *Pharmacie Galénique*, 6th Ed.; Masson; Paris, 1992.
10. Ripple, E. G. *Powders*. *Remington's Pharmaceutical Sciences*; Gennaro, A. R., Ed.; Mack Pub. Co.; Easton, PA, 1980.

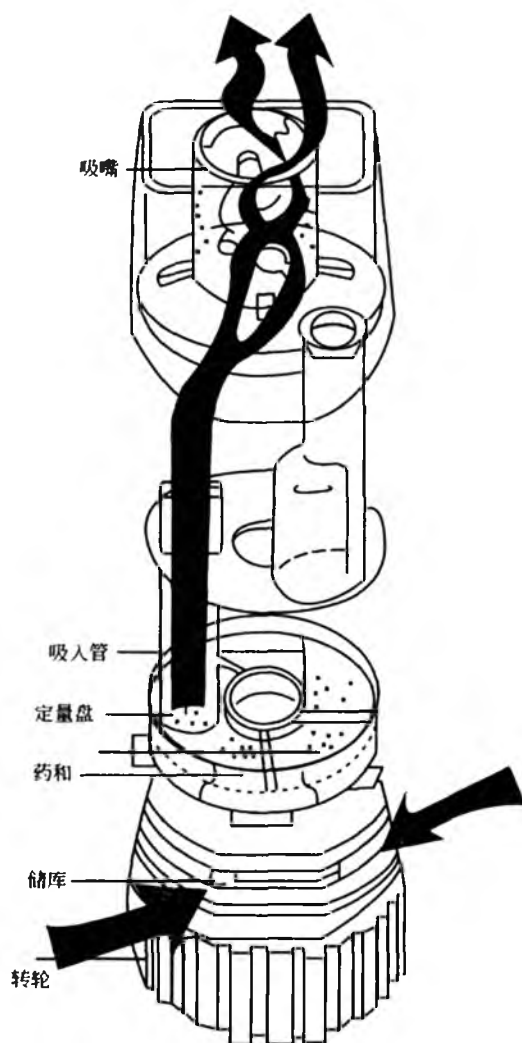


图 12 Turbuhaler



11. Parrot, E. L.; Milling, I. N.; Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kanig, J. L. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*; Milling, I. N., Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1970; 100—119.
12. Perry, R. H. *Chemical Engineers' Handbook*. 4th Ed.; McGraw-Hill: New York, 1963.
13. Aiache, J.-M.; Beyssac, E. *Powders as Dosage Forms*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 12, 389—419.
14. Staniforth, J. N. *Particle Size Analysis*. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*; Aulton, M. E., Ed.; Churchill Livingstone: Edinburgh, UK, 1988.
15. Bell, R.; Dennis, A.; Hendriksen, B.; North, N.; Sherwood, J. *Position Paper on Particle Sizing: Sample Preparation, Method Validation and Data Presentation*. *Pharm. Technol. Eur.* 1999, 11 (11), 36—42.
16. *Pharmeuropa* 1993, 5, 89—91.
17. Staniforth, J. N. *Particle Size Analysis*. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*; Aulton, M. E., Ed.; Churchill Livingstone: Edinburgh, UK, 1988.
18. Neumann, B. S. *The Flow Properties of Powders*. *Advances in Pharmaceutical Sciences*; Bean, H. S., Carless, J. E., Beckett, A. H., Eds.; Academic Press: London, UK, 1967; 2, 181—221.
19. Carr, R. L. *Chem. Eng.* 1965, 7, 163—167.
20. Neumann, B. S. *The Flow Properties of Powders*. *Advances in Pharmaceutical Sciences*; Bean, H. S., Carless, J. E., Beckett, A. H., Eds.; Academic Press: London, 1967; 2, 181—221.
21. *Génie Pharmaceutique. Galenica, Technique et Documentation*; Paris, 1982; 3.
22. Travers, D. N. *Mixing*. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*; Churchill Livingstone: Edinburgh, UK, 1988.
23. Kristensen, H. G. *Granulations*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 109—120.
24. *European Pharmacopeia*, 1999.
25. Adjei, A. L.; Doyle, R.; Reiland, T. *Flavors and Flavor Modifiers*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 6, 101—139.
26. Barra, J.; Lescure, F.; Doelker, E. *Taste Masking as a Consequence of the Organisation of Powder Mixes*. *Pharm. Acta Helv.* 1999, 74, 37—42.
27. Lindberg, N. O.; Engfors, H.; Ericsson, T. *Effervescent Pharmaceuticals*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 5, 45—71.
28. Aiache, J.-M. *Les Comprimés Effervescent*. *Pharm. Acta Helv.* 1974, 49, 169.
29. Gauthier, P.; Aiache, J.-M. *Rotary Fluidized Bed Process and Its Possibilities*. *Symposium Glatt*; Marseille; Octobre 1997.
30. Febvre, P.; Aiache, J.-M.; Bex, J. F. *Etude En Continu In Vivo De La Salicylémie Du Lapin Après Ingestion D'aspirine Soluble Sous Différentes Formes Galéniques*. *C. R. Soc. Biol.* 1969, 163, 1160.
31. Vatiér, J.; Slama, A.; Vitre, M. T.; Mignon, M. *Ranitidine 300 Mg Effervescente. Activité Antiacide Et Pouvoir Tampon Liés Au Complexe Effervescent*. *Med. Chir. Dig.* 1992, 21 (28).
32. Turco, S. J. *Dosage Forms: Parenteral*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1991; 4, 231—247.
33. Beyssac, E.; Aiache, J.-M.; Grumel, J.-M. *Modification of the Impaction Device to Assess Particle Size Distribution of Nasal Sprays*. *3th European Congress of Pharmaceutical Sciences*; Edinburgh, UK, September 1996.
34. Newman, S. P. *Metered-Dose Pressurized Aerosols and the Ozone Layer*. *Eur. Resp. J.* 1990, 3, 495—497.
35. Aiache, J.-M. *The Ideal Drug Delivery System: A Look into the Future*. *J. Aer. Med.* 1991, 4, 323—334.

(孙冠男 译)

## F

## 粉末取样

Helena J. Venables

Liverpool John Moores University, Liverpool, United Kingdom

## 引言

对粉末进行分析时，如取样量太多会耗费太多而且浪费，因此一定要减少取样量。“取样严格意义上是简单的质量减少的过程。”<sup>[1]</sup>

取样的目的是要收集能够代表整体的一定量的粉末，许多从整体的各部分中抽取的小样集中在一起是具有代表

性的<sup>[2]</sup>。理论上，每一粒子应该有一个相等的机会被抽中进行检测<sup>[3]</sup>，而且在此过程中应该尽可能少地影响体系<sup>[4]</sup>。在取样时必须保持粉末原来的组成<sup>[1]</sup>。粉末的特征在受到压力、摩擦的作用时会发生改变，在转移过程中会发生分层等。有代表性的抽样是以后正确检测的基础<sup>[2]</sup>，取决于所选择的方法，该方法必须精确和可重现。要得到可靠的样品就需要一个设计合理的取样器<sup>[1]</sup>，各种取样技术如表1所示。

表1 粉末取样技术<sup>[5]</sup>

仪器	取样器类型	取样方法	取样量	优点	缺点
管状取样器	手动	将钢管插入粉末内可取核心样品	可大可小	对自由流动的粉末效果好	由于包装底部的质量不同使得每次取样量不同 可能难于插入粉末 管内可能形成结块 颗粒会破裂 结块导致样品难于取出 较细颗粒更易进入样品中导致分层 粉末塞会被推出取样器，其表面的材料会污染样品 个人偏好导致取样位置的偏差
手铲	手动	从包装袋、包装桶或移动流体的横截面取样	大量取样，可达数吨	简便 低廉	薄层可能保留在带上导致偏差 装载过满会导致细粉过多
取样铁铲	手动	在粉末床挖取，可从底部和边缘取样	大量甚至几吨	简便 低廉	不能用于颗粒直径大于5cm的样品
横切取样器	手动/半自动/自动	传送带上取样	大量	简便	薄层可能保留在带上导致偏差
空气枪	半自动	空气流推动枪的进出口，从粉床上取样	大量	对颗粒床的影响较小 强空气流多孔板防止细颗粒太多	个人偏好导致偏差
真空探针取样器	半自动	通过真空取样	大量	简便	很难在没有污染的情况下从表面下取样 个人偏好导致偏差 细粉较大颗粒易被提出
重力螺旋钻取样器	半自动	有细孔的管子在流动粉中旋转，带出原料	大量或小量	容易利用	仍存在偏差
从流动的粉末中取样	手动/自动	当粉末从传送带上落下，粉末被收集	大量	如果能操作的很好，它会是一个很好的取样技术 在新工厂中很容易设计	很难在全部粉末流中取样 在传送带上，可能发生分层 如果溢出，收集到的细粉会比颗粒多 在现有的设备中添加，很困难也很昂贵 很难得到固定的样品 很难避免粉尘溢出

续表

仪器	取样器类型	取样方法	取样量	优点	缺点
全流动槽取样器	自动	当粉末从传送带上落下，粉末被收集	大量	可以用来进行粉尘取样	不要溢出 在现存的设备中添加，很困难也很昂贵
弧形取样	自动	使斜面通过粉末流，取样	大量	没有操作者偏差	这个过程不能改变取样的多少 必须覆盖整个粉末流，避免偏差
直形取样	自动	矩形的斜面在流动粉末中穿过	大量	不同的样品量可以容易被取到	必须覆盖整个流动相，避免偏差
转轮样品分配器	自动		大量	取样时，覆盖全部的流动粉末效率高	得到的样品量大，需要二次取样。这种方法也会产生误差。因为一侧的取样比另一侧的多
集成的自动取样装置	自动	收集初级取样的样品，重复筛选，得到最终样品	大量	快速方便	原料的变化可能导致取样问题 当设备变旧，偏差就会增大
斜槽分离器	二次取样	一系列的斜槽不断地对样品进行分离	大量	可以重复进行，直到获得需要的取样量	如果分层现象存在，结果会误导 操作者易于产生偏差
圆锥和四等分取样	二次取样	粉末倒进圆锥体，被分成了四等份。这个步骤可以重复直至获得需要的取样量	小量	简单	操作者易于产生偏差，因为细粉会在圆锥体中部聚集 对称很难办到，但对精确度很重要
旋转缩分器	二次取样	一个稳定的粉末流流进转动的收集器中	大量/少量	对于大量样品二次取样较合适 对于流动性好的样品较合适 偏差最小 比测试的其他取样器更有效	气流会取代细颗粒但转速较慢时可以避免 昂贵 费时 可能会分层
自由下落翻转混合器	二次取样	容器的盖子上带有长柄，以收集代表性好的样品	大量/小量	可以用于细粉代表性的样品可以在很短的时间内获得	
漏斗样品分配器	二次取样	漏斗加料器绕一个水平轴振动，粉末便进入两个容器。只保留其中一份	小量	通过监测停留在每个容器上面的时间即可控制取样量	为求精度，要多次增量 很低的精度
桌面取样器	二次取样	原料从带有一系列孔隙的倾斜平面上流下，分离样品	小量	简单	每一次分离后都应该完全混合 避免产生错误

最佳化取样必须遵守下列重要的规则：

- (1) 从流动的粉末中取样；
- (2) 间隔相等的时间从流动的粉末中取样，而不是一直收取一部分流动的粉末<sup>[2]</sup>。

## 概况

所有的分析人员在取样的方式上都有个人的偏好，随机编号的表格能够消除这个问题<sup>[6]</sup>。

取样可以通过下列两种方法进行：

- (1) 在流动粉末中逐渐增加取样量；
- (2) 将总供试品以等分法取样<sup>[1]</sup>。

应该全面考虑样品的编号、取样量及取样方法。误差的许可范围决定了取样量。取样越多，出现的误差就越小<sup>[7]</sup>。即使非常小心，也会存在误差，这会导致样品与批产品组成不同<sup>[8]</sup>。

“选择取样方法而不引入个人的喜好和偏见，实施起来都特别的困难。”<sup>[6]</sup>

当确定合适的取样量时，必须考虑检测限。

## 检测限

当仔细检查混合物时，经常会发现有离析的区域存在，可以测量混合物中瑕疵的最小范围，被称作检测限（scale

# F

of scrutiny)。它可以用长度、面积、体积或质量来表示<sup>[9]</sup>。检测限与最终的产品有直接的联系。如果产品是药片，那它就用药片的质量来表示。低限由粒子大小决定<sup>[10]</sup>，当检测限大，或者微粒小时，大量的微粒就会出现在样品中，混合物就会显得均匀<sup>[9]</sup>。不可能完全避免离析，所以推荐对终产品取样<sup>[7]</sup>。

## 人工取样

### 1. 取样器

这个工具对自由流动的粉末很有效，它有两个同心的管子，一个套进另一个管子中，外面的管子一端是尖角的，内外管子相应的位置有一个孔，通过内部的管子的旋转，使孔道开闭而获得样品（图1）<sup>[12]</sup>。

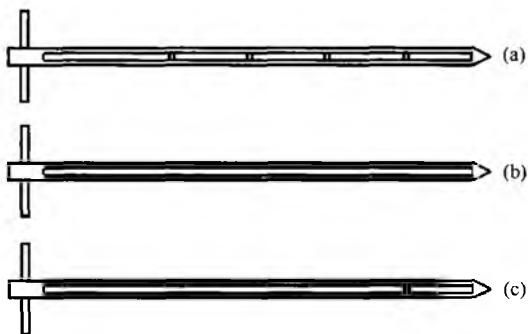


图1 取样器。(a) 管子上有独立的孔，用于不测定离析；(b) 全长的腔体，可用于局部取样；(c) 一边尖的腔体，只能获得许多样品的平均值<sup>[9,11]</sup>

另一种工具是一个同心的，内部有细长的孔，外部较低的尖角处有个侧翼装置的管状物。外部的管子没有孔，它位于在内管关闭位置的侧翼处，这个装置从对角将粉末推入，外面的管子升高暴露狭缝，该狭缝向下。材料落入容器中，然后移开该管子。慢慢地打开管状物，收集粉末床中有代表性的样品<sup>[12]</sup>。

有时取样器推入粉末会变得相当的困难，当处理粉末时，有太多紧闭、移动的表面并不好，因为细粉会在其间阻塞和聚集<sup>[13]</sup>。微粒可能破裂，或者细粉会通过取样器的运动被压得紧密，从而阻碍流动。由于个人对取样部位的喜好导致了取样偏差。因为细粉比粗粒更容易渗入到样品中，从而出现离析<sup>[11]</sup>。一截塞子状的粉末被推出取样器的前部，表面材料会污染样品<sup>[6]</sup>。

减少离析的其他可能的技术是单剂量压实取样器（图2）。使用这种方法出现偏差在所难免，因为任何一种取样器都具有侵入性质<sup>[14]</sup>。

### 2. 手铲

可以用铲子从袋、桶或流动的粉末中取出横截面的样品。从流动的粉末中，操作铲子穿过粉末流一次就可以收

集样品。在每一次收集中相反方向也应该进行<sup>[12]</sup>。铲子的宽度至少是最大颗粒的尺寸的2.5~3倍，这样可以防止由于装得太多而导致的细粉过剩<sup>[15]</sup>，必须非常小心不要在带上留下一薄层粉末<sup>[11]</sup>。对于细粉，大一点的铲子可以减少水分损失，量太大时，用铁铲可能更方便些<sup>[15]</sup>。由于简单和价廉，在制造业中广泛的使用这个方法<sup>[11]</sup>。

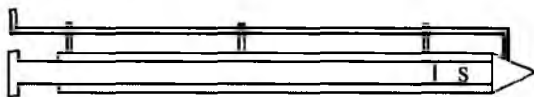


图2 单剂量压实取样器样品收集于“S”部位，外部的杆旋转以开闭取样器<sup>[5]</sup>

### 3. 取样铁铲

使用铁铲取样这种方法时，把一堆原料设想成一个栅格。在交叉点处，挖了一些凹陷的小坑，每个小坑大约有30cm深，从每个小坑的底部和侧面取样<sup>[12]</sup>。这种方法只能用于大批量（以吨计）的原料，但是它不能用于直径大于5cm的颗粒的取样<sup>[15]</sup>。

### 4. 横切取样器

这种方法是使用一个传送带传送粉末，当传送带停止时，用手、全自动或者半自动的装置来取样。取样量可以通过传送带上的标记表明，所有标记内的样品均收集。如果采用自动化系统，一个机械头通过事先调整的间隔，穿梭于原料中，把样品转移到收集器<sup>[12]</sup>。

## 半自动取样

### 1. 空气枪

这种方法适用于松散的粉末。从喷嘴缓缓喷出的空气允许探针从粉床中穿过。在取样的部位，空气流向会慢慢地反转，从而能吸取样品，样品收集在紧靠探针末端的多孔板处<sup>[13]</sup>。如果空气流动太强，这个多孔板能够阻止大量细粉的存在（图3）。空气枪可以将粉末扰动最小化，虽然也存在偏差，但它与一般的取样器相比还是有优势的<sup>[13]</sup>。

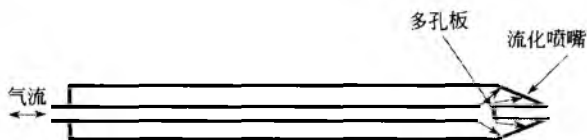


图3 空气枪<sup>[5]</sup>

### 2. 真空探针取样器

大量样品可以通过真空吸尘原理从容器中抽取出来。但当在原料表面下进行取样时，就会产生污染，细粉比粗颗粒更容易抽取，但这种方法也存在偏差<sup>[12]</sup>。

### 3. 重力螺旋钻取样器

这种取样器有一个细长管子可以在流动物料中旋转，收集到的原料通过螺旋杆带出管外。这种方法很难对全部物料流进行取样，并且仍然存在偏差<sup>[12]</sup>。

## 从流动的粉末中取样

运用这些方法，应该特别注意以避免引起分层。当粉末从传送带上落下时，它可以被收集，且表现为两种分层

类型：

(1) 如果将粉末装到传送带上，当粗颗粒滚到传送带外边缘时，细粉会集中在传送带的中央，与从一堆原料中取样看到的分层现象相同；

(2) 如果粉末置于振动带上，筛动作用会导致大的颗粒升到粉末床的上面，而细粉会留在底部。

整个粉末必须在很短的时间内收集，并且将取样器移进和移出粉末流时要格外小心<sup>[11]</sup>。

从流动的粉末中取样有多种方法，这里介绍其中3种(图4)。

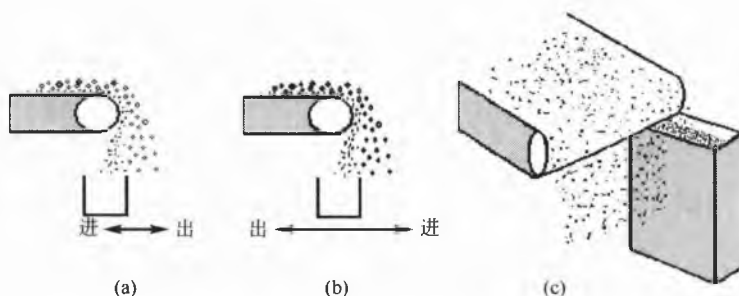


图4 从粉末流中取样的方法。(a) 如果静止取样时间过长，而不是将取样器插入和取出，该法会导致粗颗粒过多，因为表面的粗颗粒较多，该区域的取样时间较长；(b) 在整个粉末流中移动，该取样技术很好，但这并不总是可行的，因为会引起阻塞。取样器静止的时间与移动的时间比应尽可能大；(c) 当样品量太大时无法收集整个粉末流，应该使用该法。样品收集器穿过粉末流<sup>[5]</sup>

在这些方法以及其他从流动粉末中取样的方法中，取样收集器的尺寸是非常重要的。用于收集较小颗粒的收集器要比收集大颗粒的收集器宽，因为细粉在空气中有容易漂浮的趋势。为了尽可能减小误差，盒子的宽度与颗粒直径的比应该至少保持在20:1，当收集细粉时，比值应该更大。收集器的深度要足够，以防止取样时收集器装满。如果溢出，细粉会从形成的堆中漏出，同时粗颗粒就会丢失。收集器的长度应该足够长，以便于对整个长度的流动粉末进行取样<sup>[11]</sup>。这种方法的缺点是：

- (1) 对现行的设备进行改造很困难并且昂贵，但设计一个新的设备很容易；
- (2) 取样量与设备的速率成正比，速率变化幅度很大，所以很难得到固定量的样品，同时取样量可能太多；
- (3) 用密闭取样器来阻止灰尘溢出很难<sup>[11]</sup>。

### 全流槽式取样器

可以用来对粉尘原料进行取样。取样通过来回运动的冲程来进行(图5)。槽必须不能装满<sup>[11]</sup>。

## 批取样

### 1. 袋取样

当从袋装的许多吨原料中抽取样品时，应该系统地选择一些袋子，如第100袋、第200袋、第300袋等，或者通

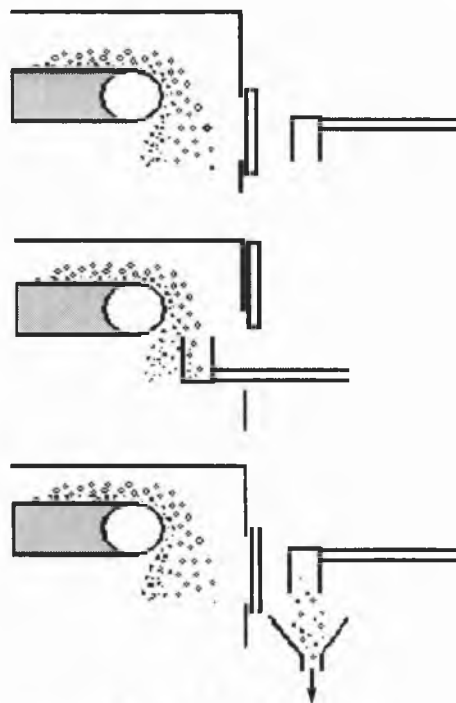


图5 全流槽式取样器<sup>[5]</sup>

过随机数表，或者通过 $\sqrt{n-1}$  ( $n=9\sim100$ ) 加以确定。每个样品都可以单独地评价以确定变异是否符合要求，或者

组合后得出一个平均值再作判断。这种取样是值得推荐的，但这也会导致误差<sup>[16]</sup>。最好使用旋转分格取样器，但这个装置很昂贵。该取样器能避免丢弃好的原料而接收坏的原料，而使用上述便宜的技术，就可能发生这种情况<sup>[11]</sup>。

## 2. 从货车和集装箱中取样

因为物料填充过程中的离析和运输的震动，这几乎不可能获得满意的结果。为避免由于震动造成表层的离析，不应在顶部 30cm 内取样。当移动样品时，应在不引起颗粒滑动的表层进行。这可以通过取样器来完成<sup>[11]</sup>。

抽取样品应该在层面的 8 个点处进行（图 6）。这种取样的方法也许不能令人满意，但在某些特定环境下还是不得不用<sup>[11]</sup>。

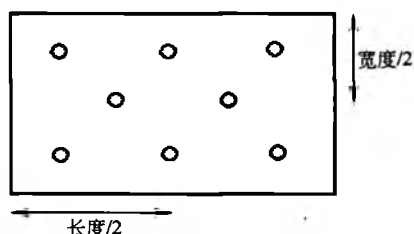


图 6 从货车和集装箱中取样的位置<sup>[5]</sup>

## 堆取样

由于细小粒子集中在圆锥堆中央，有明显的离析现象，因此不能在这种情况下进行取样（图 7），而应该在粉末流中进行取样<sup>[11]</sup>。



图 7 粉末堆的离析。细颗粒用黑色表示，粗颗粒用白色表示<sup>[5]</sup>

## 自动取样

确定待取的粉末量后，以一定的时间间隔或持续进行取样。由于固有的偏差，因此需要定期进行检查。对所有物质取样均应以恒速进行，应避免物料的阻塞。

### 1. 弧形取样

以一定的角度在一根垂直轴上安装斜面，周期性地旋转垂直轴，使斜面按设定的时间通过粉末流。可以通过增加旋转速度加大取样点数量，这个过程不改变取样量。

## 2. 直截取样

用矩形面反复穿过粉末流，移开并停留不同时间。这样可以相对更容易抽取不同数量的样品。但必须覆盖整个粉末流，以避免造成偏差<sup>[15]</sup>。

## 3. 转轮样品分配器

带有水平轴的转轮可以保持在两个位置的任一面。粉末流要么被分配到储藏一面，要么将被取样。转动过程是自动控制的（图 8）。如果样品太大，将使用平板取样器，多余的粉末将被送回储藏处。这种方法很有效，如果使用平板取样器可能导致错误的发生<sup>[11]</sup>。当一面取样多于另一面时将导致微小的偏差。

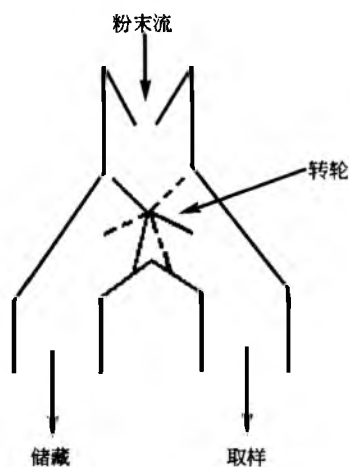


图 8 转轮样品分配器<sup>[5]</sup>

## 4. 集成的自动取样装置

该装置对原始样品进行重复筛分以获得最终样品，快速且便利，然而随着设备的逐渐磨损，原料改变时可能出问题，并导致偏差<sup>[15]</sup>。

## 二次取样

该过程能够从大量样品中取得有代表性小样<sup>[15]</sup>。

### 1. 锥体四分法

将粉末状的物料倒入锥形体中，并且平均地分成 4 份。取四分之一量重复进行，如此操作直到获得需要的样品量。这种方法也易于发生个人偏差，由于颗粒大小不同引起的离析作用，使比较细的颗粒会保持在圆锥体的中部<sup>[17]</sup>。圆锥体的对称性也很难保证，而这恰恰是精确度所要求的，所以这个方法不推荐<sup>[11]</sup>。

### 2. 斜槽分割

这个仪器是一个 V 形的槽状物，在它的底部有一系列斜道，在槽的两边各有一个托盘。样品进入斜道，被重复

地平均分配,直到获得所需要的样品量<sup>[17]</sup>。两个沟槽的距离应该至少是最大的颗粒直径的3倍<sup>[15]</sup>。由于样品的不均匀分割,这种方法容易造成误差。研究发现,大量的斜道可以提高整体效率<sup>[11]</sup>。

### 3. 旋转分格取样器

旋转分格取样器工作原理是将稳定流动的粉末转移到旋转的收集容器中<sup>[13]</sup>(图9),可以收集两部分甚至更多部分的样品,而且这是一个可以连续分割的过程<sup>[15]</sup>。通过增加收集器的旋转速度或者增加收集的持续时间,使每个收集器中的样品变得更有代表性。旋转的速度受能扰动粉末的空气流所限制<sup>[13]</sup>。大的样品很难二次取样,这个仪器可以在这种场合下很好地使用<sup>[15]</sup>。

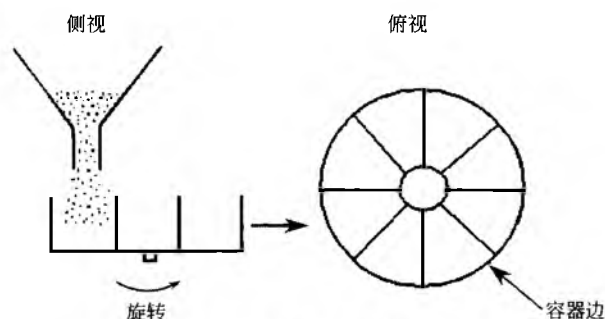


图9 旋转分格取样器<sup>[5]</sup>

如果粉末有很好的流动性,这个仪器会工作得很好;然而样品里应该只有很小比例的细粉,因为空气流会移除它们,所以取样不具有代表性。分格取样器对单一的粉末成分效果会很好,但会发生离析,而且价格昂贵和费时<sup>[13]</sup>。但是与锥体四分法和斜槽分割相比还是很有有效的。并且对于流动性好的粉末,受操作者的影响很少<sup>[17]</sup>。

研究发现,分格取样器的效率取决于混合物中的相对比例,如石英和硫酸铜结晶混合物。效率随着颗粒的增大而增加,在相似的实验条件下可以重复,并且不会受体积单位数的影响(体积单位是进料取样的单一表现形式,在这个实验条件中最小单位是100,所以这只能用于较大的值)。这个结论可能不适用于出现离析的场合<sup>[11]</sup>。

在其他实验中,将不同取样器的相对效率进行比较,得出的结论是:锥体四分法、铲取样器和平面取样器的效率是很低的。所以旋转分格取样器比其他仪器有很大的优越性,应该尽可能地使用它。用分格取样器以获得最佳结果最少需要35种代表性样品,但是如果旋转得过快,由于空气流的影响,效果会下降<sup>[18]</sup>。

### 4. 自由下落式翻转混合器

该法可用于含有细粉的样品。样品容器的盖子上带有长柄,经过短时间的翻转后,混合器中就会发生混乱无序的状态,这样就获得了具有代表性的样品<sup>[13]</sup>。

### 5. 漏斗样品分取器

漏斗加料器绕一个水平轴振动,粉末便进入两个容器。只保留其中一份即可。通过监测停留在每个容器上面的时间即可控制取样量。为了更精确可以多次加料<sup>[11]</sup>。

### 6. 平面取样

原料被放在一个带有一系列孔的倾斜平面上。这些斜面使粉末分级:一些粉末掉进孔中被丢弃而剩余的被带到下一组斜面和孔上,这一过程重复多次。残留在斜面底部的粉末便作为样品。最初的材料必须均匀分布在斜面上,而且每次分离后剩余粉末都要重新彻底混合,这种方法精确度很低<sup>[11]</sup>。

## 从样品中再取样

既然已经极其仔细地大批粉末中取得样品,就忽略了用什么方法从样品中取出小量用于分析是不可取的。从样品中重新取样的精密度等同于取样的精密度,这可以降低在从批量产品中取样时存在的误差。而分析化学家大多意识不到他们所分析的是一个精密的取样计划的最终产品<sup>[8]</sup>(他们大多满足于仅仅是仪器与样品的抓取者。人们疑惑怎么有那么多的分析者没有意识到他们从一瓶糨糊中取样分析这一步骤的误差可能会比分析中的误差大得多<sup>[19]</sup>)。

取样是分步的过程,在取样过程中各个步骤产生的误差列于表2。取样依次进行直到产生供分析的那一部分。整个过程可以概括为两大步骤:

(1) 初级取样:这一步包括产生实验样品的分析实验室以外的所有步骤;

(2) 次级取样:包括分析实验室中进行的所有步骤<sup>[8]</sup>。

表2 取样过程中的误差<sup>[5]</sup>

样品	偏差/%
初级样品	≤1000
二次样品	≤50
分析	0.1~1

在分析实验室,看上去很小的问题会对样品分析的精确度产生很大的影响。当称量样品时:

(1) 粉末也许会留在天平的托盘上,但是减量称重不能完全解决这一问题,留在托盘上的粉末大多是黏性的细小颗粒,将会导致粗颗粒的浓度偏高而产生误差;

(2) 粉末也许会被“冲洗进去”,一点也没有残留。这样是期望的结果,但是选择合适的溶剂对样品的取出与转移是重要的<sup>[20]</sup>。

## 均匀混合的历史

1992年美国政府起诉了Barr公司,声称该公司违反了联邦食品、药品与化妆品法案。Barr公司随后对此作出回

应,企图从“特别药物管理”中取得豁免<sup>[21]</sup>。以乙酰氨基酚和磷酸可待因片为焦点,因为怀疑其含量<sup>[22]</sup>,法官 Wolin 在判决中确立了此行业的新标准。随后整个医药工业界的大讨论导致了产品质量研究所(PQRI)向 FDA 推荐了一份新工业指南。这场争论现总结如下:

### 1. 美国政府对 Barr 公司 (1993 年)

Wolin 法官声称终产物检测并不能代替混合均匀性检测(BUA),因为他认为终产物检测是有局限性的。对 BUA 来说对大批产品的取样量应当高达 3 倍于有效成分剂量,但是如果发现大的误差存在,并明显会引起整批产品的不合格时应该增加至 10 倍。在出现不合格时,同样的样品应该重检,而不是重新取样,因为后来新取的样品有可能缺乏同一性。重新取样得到的结果不能用来放行已经出问题的产品,除非是符合 USP 标准(含量均匀度和溶出度)或者是先前的样品制备不恰当。应从混合器中较松散或温度较高的部分取样以证明取样具有代表性。重新混合被认为是不真实的,这会引起对其他已通过的批次的怀疑,因此频繁地重复混合是不可取的<sup>[23]</sup>。

### 2. 对规则的影响

根据“Barr 判决”,FDA 建议 BUA 应该比最终产品检测更加严格,因为在工艺过程中无序化会增加<sup>[24]</sup>。作为对取样的推荐量为不多于 3 倍剂量的回应(现在多称为单位剂量的取样要求),提出了取样的误差问题。由于检测的结果不具有混合均匀性的代表性,这些误差经常导致批产品的不合格和巨大的工业损失<sup>[25]</sup>。所有的样品都要分析并且必须保留双份的样品以备复查<sup>[26]</sup>。

用商业上可应用的 4 种不同取样器分别取单位剂量的样品,并比较会发现各样品的组成会有相当大的差异。虽然只应用一种混合方式,一种取样器看起来可以取得具有代表性的样品并具有较小的误差<sup>[27]</sup>。

### 3. FDA 混合均匀性规范 (1999 年)

这份文件称,一个剂量单位中含有多于 50mg 有效成分的剂型或者多于 50%质量的有效成分剂型很少需要进行 BUA。最终产品的检测通常情况下是足够的,因为在这些情况中药物含量占混合物的大部分。在这些限度下,推荐 BUA 作为一项常规检测。建议将取样量定为低于或等于 3 倍单剂量的质量。如果误差确实存在而且已经被证实,那么可以将取样量增加至 10 倍的剂量数。需要从圆筒及混合器中取 6~10 次样品,而且被测样品量应该等于所应用的剂量<sup>[28]</sup>。

来自 PhRMA 统计工作小组的回应是,用取样器从混合物中取样离析了混合物,从而导致样品缺乏代表性并产生多变性。Wolin 法官曾经假设用取样器连续地从粉末床面上取样能够得到具有代表性的样品,但是事实并非如此,因此并不需要在过程中检测<sup>[29]</sup>。

### 4. 产品质量研究所的回应

在 2000 年 9 月,一场由 PQRI 资助的混合均匀性工作

小组(BUWG)研讨会召开了,来自 FDA、工业界及学术界的人员参加了这场研讨会。这次研讨会总的答复是对每一批样品的混合均匀性分析不是一项增值检测,因为在混合均匀性与终产物均匀性之间并不存在统计上的相关性。但是推荐延伸终产品的检测,对 BUA 最大的反对在于受限制的取样技术<sup>[30]</sup>。

BUWG 向制药企业索要数据用于证实在 FDA 草案指导中的可接受标准,应用计算机模拟以及需要的数据来检测“在常规生产中的混合均匀性检测不能预测制剂的均匀性”这一假设<sup>[31]</sup>。应用这种计算机输入结合实验研究,BUWG 将一份建议已经提交给 FDA。该建议提出混合器与批半成品容器也需要在 BUA 过程中广泛取样以检测混合器中的“死点”、IBC 中的离析以及取样出现的错误。对每个产品均要设计混合物取样,例如取样器的设计以及取样量等,以最大限度减小误差与错误。分层的取样方法应该得到应用。这项技术故意定位混合、压缩与填充的操作过程的弱点以获得样品。一个剂量单位应确定至少 20 个空间上均匀分布的取样点。这些严格的技术应该能揭露出那些在生产过程中发生的不能被察觉的错误,而且能消除分析过程中的称量错误<sup>[32]</sup>。

在 2002 年 5 月 8 日的会议上 FDA 的药物咨询委员会得出结论,由 PQRI 推荐的分层次的取样技术可以应用到常规生产和生物等价及批验证上。FDA 将会内部审核 PQRI 的提案,并给他们进一步的建议。该结果将会形成一份关于成分均匀性的 FDA 指导原则<sup>[32]</sup>。

## 结论

当大量以及少量取样都可能带来误导性的结果时必须认真考虑精密度。

取样作为分析技术的一部分存在于生产过程中的所有环节,特别是在扩大规模生产中。如果操作准确它可以避免公司承受不必要的损失。虽然它不会产生收入,但是它具有经济上的重要性,通过正确的技术操作可以很容易地避免重大损失。

“总之,分析结果的可靠性取决于取样的准确性及其结果的可重现性。”<sup>[8]</sup>

原则是从粉末流中按相同时间间隔采一系列的样,这样可以确保粉末的所有部分都有相同的概率从而可以使精确度最大化<sup>[2]</sup>。不符合此项原则的取样器不可以使用,即使这种仪器很受欢迎,因为它的很多缺点会导致偏差与错误。如果能很好地遵守这些原则,许多其他的方法也会很快地被规范化。

这里讨论的自动取样法容易产生误差,因为它在某些地方的取样会较其他部位多。直接从粉末流上取样需要特别注意避免离析,但是,从流动的粉末中取样中的方法可以避免这种问题。

旋转分格取样器法与自由下落翻转混合器法是两种重要的方法。前者已经被实验证实是一种极好的取样方法,可以



在任何可能的情况下使用。后者还需要进一步地深入研究。依赖于混合过程形成的混乱状况的取样方法是很好的。依据推荐的原则,粉末是流动的,而且所有的粉末都有被取到的可能性。粉末飘散到周围环境中的问题也可以避免<sup>[13]</sup>。

如果FDA选择接受PQRI所推荐的分层取样方法,混合均匀性检测及其取样的大问题将很快成为历史。那时,任何时候都要求遵守指南,而且要增强将误差最小化的意识,取样的重要性也不能被低估。必须进行多次检测以确保每一份混合物样品都达到标准。

### 参考文献

- Gy, P. Sampling for Analytical Purposes; Wiley: Chichester, 1998.
- Svarovsky, I. Characterization of Powders. In Principles of Powder Technology; Rhodes, M. J., Ed.; John Wiley & Sons; Chichester, 1990; 35-69.
- Hawkins, A. E. Characterizing the Single Particle. In Principles of Powder Technology; Rhodes, M. J., Ed.; John Wiley & Sons; Chichester, 1990; 9-34.
- Ashton, M. D.; Schofield, C.; Valentin, F. H. H. The use of a light probe for assessing the homogeneity of powder mixtures. Chem. Eng. Sci. 1966, 21, 843-849.
- Venables, H. J.; Wells, J. I. Powder Sampling; Drug Dev. Ind. Pharm., Marcel Dekker Inc.; New York, 2002; Vol. 28 (2), 107-117.
- Harnby, N. The Sampling of Particulate Mixtures. In Powtech '75. Proceedings of the 3rd International Powder Technology and Bulk Solids Conference; A. S. Goldberg, Heydon & Son Ltd.; London, 1976.
- Hersey, J. A. Sampling and assessment of powder mixtures for cosmetics and pharmaceuticals. J. Soc. Cosmetic Chemists 1970, 21, 259-269.
- Gy, P. Sampling—Diving into the unknown. LC-GC 1994, 12 (11), 808-817.
- Orr, C. Particulate Technology, 1st Ed.; Collier-Macmillan Ltd.; London, 1966; 87-123.
- Shotton, E.; Ridgway, K. C. Physical Pharmaceutics; Clarendon Press; Oxford, 1974; 236-240.
- Allen, T. Powder Technology Theory, 3rd Ed.; Chapman and Hall, 1981.
- Bicking, C. A. Sampling. In Encyclopedia of Chemical Technology, 2nd Ed.; Interscience Publishers; Kirk-Othmer, 1964; Vol. 17, 744-762.
- Kaye, B. H. Powder Mixing. In Powder and Powder Mixture Characterization Technology; Chapman & Hall; London, 1997; 77-95.
- Chang, R. K.; Shukla, J.; Buehler, J. An evaluation of a unit dose compacting sample thief and a discussion of content uniformity testing and blending validation issues. Drug Dev. Ind. Pharm. 1996, 22 (9 & 10), 1031-1035.
- Crosby, N. T.; Patel, I. General Principles of Good Sampling Practice; Royal Society of Chemistry; Cambridge, 1995.
- Kaye, B. H.; Naylor, A. G. Powder Sampling Procedures. In Particle Technology. Proc., Seminar, Madras, 1971; Indian Institute of Technology, 1972; 47-66.
- Allen, T. Sampling and size analysis. Silica. Ind. 1964, 29 (12), 509-515.
- Khan, A. A. MSc Thesis; Bradford University, 1968.
- Royle, A. G. Minerals Industry International, 1993.
- Wells, J. I. Pharmaceutical Preformulation; Ellis Horwood; Chichester, 1988; 192-208.
- Barr Court Decision; 1993. <http://www.gmp1st.com/barr2.htm> (accessed August 2002).
- FDA. 1993. <http://www.fda.gov/bbs/toppics/ENFORCE/ENF00242.html> (accessed August 2002).
- United States v. Barr Laboratories. District Court of New Jersey. 1993, 812F, Supp. 458.
- Guentensberger, J.; Lameiro, P.; Nyhuis, A.; O'Connell, B.; Tigner, S. A statistical approach to blend uniformity acceptance criteria. Drug Dev. Ind. Pharm. 1996, 22 (11), 1055-1061.
- Berman, J.; Schoeneman, A.; Shelton, J. Unit dose sampling; A tale of two thieves. Drug Dev. Ind. Pharm. 1996, 22 (11), 1121-1132.
- PDA technical report No. 25. Blend uniformity analysis: Validation and in-process testing. PDA J. Sci. Technol. 1997, 51 (53), 1-44.
- Pastor, R.; Gómez, R.; Ramirez, J. L.; Rodriguez, D.; Mortensen, N.; Bellamy, M. K. A novel sample thief designed to avoid biased data. Pharm. Tech. Yearbook 1999, 47-54.
- Guidance for Industry. In ANDAs; Blend Uniformity Analysis Draft Guidance; FDA Center for Drug Evaluation and Research, 1999; 1-7.
- PhRMA Statistics Working Group. Comments on ANDAs; Blend Uniformity Analysis—Draft Guidance; 1999.
- PQRI. <http://www.pqri.org> (accessed November 2000).
- PQRI. Results of Statistical Analysis of Blend and Dosage Unit Content Uniformity Data Obtained from the PQRI BUWG Data-Mining Effort; <http://www.pqri.org> (accessed August 2002).
- FDA Advisory Committee. [http://www.fdaadvisorycommittee.com/FDC/Advisory-Committee/Committees/Pharmaceutical+Science/050802\\_ANDA\\_blend/050802\\_ANDAblendR.htm](http://www.fdaadvisorycommittee.com/FDC/Advisory-Committee/Committees/Pharmaceutical+Science/050802_ANDA_blend/050802_ANDAblendR.htm) (accessed August 2002).
- Smith, R.; James, R. V. The Sampling of Bulk Materials; Royal Society of Chemistry; London, 1981.

(于垂亮 译)

## F

## 辐照灭菌法

Stephen G. Schulman

Phillip M. Achey

University of Florida, Gainesville, Florida, U. S. A.

## 引言

电离辐射对物质的作用与随后的受辐射分子间的相互作用对于药品和医疗器械的灭菌是非常有用的。为了能够最大限度地发挥电离辐射的作用,我们应该对产生生命体和非生命体辐射损伤的基本过程有一定的认识。

本章介绍了电离辐射对生物体的作用,首先阐述凝聚体的物理化学作用,然后阐述生命体尤其是微生物和病毒对电离辐射的生物响应。本章还包括了目前电离辐射的应用及其在医药工业重要领域应用方面的政府政策。

## 电离辐射

辐射能可以是电磁能或粒子辐射的形式。辐射可以区分为非离子化或离子化。非离子化辐射的例子包括电磁波谱中的紫外、可见光、红外和无线电频率部分。这些辐射方式在本章不予阐述。

所有电离辐射的共同特征是有足够能量使暴露物体产生电离。这些离子化导致轨道电子从原子中释放并发生共价键断裂。分子以这种方式获得的能量释放将导致暴露物体的物理和化学结构产生显著变化,这是因为电离辐射能的浓缩与集中释放。与之相比,热量型加热在引起键断裂上不如电离辐射有效,这是因为热能在物质中分布广且呈弥散性释放。人体全身暴露于相当于饮用一杯热咖啡所吸收的热能的电离辐射能中时,将会导致其在 30 天内死亡。因此,由于强有力的生物作用及我们对电离辐射暴露感知能力的缺乏(除非暴露剂量非常高),因此使用这些试剂时需要高度警惕。

电离辐射的另一个共同特性是具有穿透物质的能力。两种最常用的灭菌方式是高能电子束和电磁辐射(如由钴 60 或铯 137 产生的  $\gamma$  射线)。 $\gamma$  射线与 X 射线的穿透力远远超过电子。在任一条件下,当设计使用电离辐射对物质灭菌的方案时,辐射的穿透力是必须考虑的。

## 电离辐射的物理化学作用

本节涉及高能辐射与物质间相互作用的基本特性,从辐射能的吸收到最终体系内化学平衡的建立。这一过程大致可以分为三个阶段,如图 1 所示。

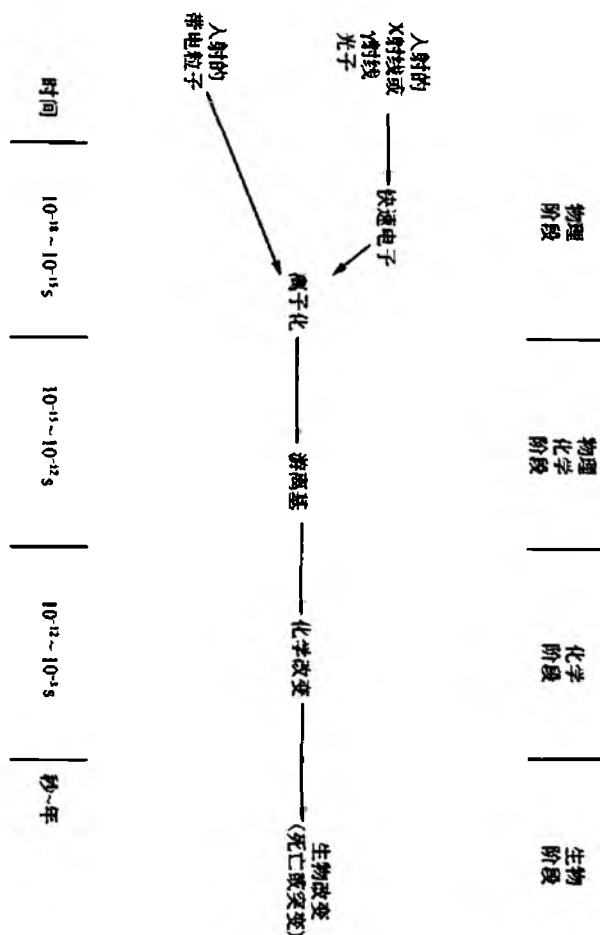


图 1 在化学体系和生物有机体内辐射行为的各个阶段

物理阶段,包括受辐射体系辐射能的吸收。这一阶段的持续时间为  $10^{-15} \text{ s}$  量级。

物理化学阶段,这些过程建立了体系内热平衡。这一阶段的持续时间为  $10^{-12} \text{ s}$  量级。

化学阶段,这一阶段需要活性粒子的扩散和化学反应,最终达到化学平衡。这一阶段的持续时间超过  $10^{-8} \text{ s}$ ,取决于活性粒子的速率常数和扩散系数。

## 1. 物理阶段

与介质中电离辐射相关的能量吸收最初导致离子化和电子激发。无论辐射的特性如何,这些过程均会出现。然而,由带电粒子引起的电子激发和离子化的机制与高能光子是不同的。

### 1.1 带电粒子

与带电粒子辐射的介质(如质子、 $\beta$ 粒子和 $\gamma$ 射线)间的相互作用主要包括静电库仑激发和由介质中原子和分子的电子喷射引起的电离。根据贝特的半古典式处理方法,每单位长度转移到介质的能量与重粒子的电荷 $Ze$ 及速率 $v$ 之间的关系为

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi Z^2 e^4 n}{mv^2} \ln \frac{2mv^2}{I} \quad (1)$$

式中: $n$ 为介质的电子密度(单位体积的电子数量); $m$ 为电子质量; $I$ 为介质的平均激发电势(当 $Z=30$ 时, $I=11.5ZeV$ ;当 $Z>30$ 时, $I=8.8ZeV$ ,其中 $Z$ 为介质的平均原子数)。

$-dE/dx$ 称为辐射的线性能量传递(LET)。如果电子( $\beta$ 射线)是电离粒子,那么LET的方程表达式略有不同:

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi Z^2 e^4 n}{mv^2} \ln \left( \frac{mv^2}{2I} \sqrt{\frac{e}{2}} \right) \quad (2)$$

式中: $e$ 为自然对数的底。

从式(1)和式(2),我们可以得到几个重要结论。第一,在特定介质中,带电粒子能量损耗率与介质中的电子成比例;第二,对数项之外的因子 $v^2$ 比对数项内的更重要,因而随着粒子速率的减小,能量损耗率增大;第三,将两个同能量但不同质量的粒子相比较,质量较大的粒子速率低,因而LET值较大。因此, $\alpha$ 粒子与相同能量的 $\beta$ 粒子相比,每单位路径长度能够产生更多的电子激发和电离,并且路径长度更短。

### 1.2 高能光子

当高能量光子如X射线和 $\gamma$ 射线穿过物质时,它们以三种机制丢失能量:第一种为光电吸收,在这种机制中,光子将其能量全部转移至电子;第二种为康普顿散射,在这种机制中,光子仅将部分能量转移给电子;第三种为电子对形成,在这种机制中,光子消失,高能电子和正电子形成。各种机制的相对重要性由光子的能量决定。对于能量在100keV到2MeV的光子,介质吸收能量的主要机制为康普顿散射;能量更高的光子倾向于形成电子对(产生电子对至少需要1.02MeV的能量);能量较低的光子则偏向于光电吸收。吸收高能量光子的主要作用是产生高能电子,这些高能电子根据式(2)描述的机理分散能量。

一般来说,将带能量粒子的能量转移到介质是为了沿其传递路径产生各种电子激发的分子、离子及自由电子。伴随着离子的产生也生成了次级电子。造成这些粒子形成的电子跃迁出现的时间( $10^{-15}$ s)要比分子振动周期( $10^{-14} \sim 10^{-12}$ s)短。每单位质量受辐射体系吸收的能量,称为剂量,用单位拉德(rad)表示。一拉德( $=6.24 \times 10^{13}$  eV/g)为使1g受辐射体系积聚100erg能量所需的辐射量。

### 2. 物理化学阶段

这一阶段的持续时间大约为 $10^{-14} \sim 10^{-12}$ s,是典型的

分子振动周期。在这一阶段会发生分子内重排。

在物理化学阶段,受激发的分子和离子通过键断裂、发光、内部转化及能量转移至邻近分子的方式来释放多余能量。同时,在物理阶段产生的低能量次级电子与周围环境中的分子相互作用形成自由基。

### 3. 化学阶段

在这一阶段中,前阶段产生的活性中间体(离子和自由基)由产生的位置扩散开来,相互间或与周围的分子发生化学反应。

在凝聚体系(液体和固体)中,由物理化学阶段产生并在化学阶段起反应的主要活性粒子是自由基,其主要的反应模式是原子的提取、自由基的再结合以及 $\pi$ 键的加成。

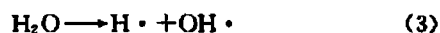
由于大多数药物科学家感兴趣的体系是液体或固体,因而提供一些液体或固体样品普遍具有的辐射分解特性是非常有用的。

### 4. 液体

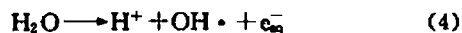
首先,受辐射液体发射电子生成离子。发射出的电子一般在其母离子电场内失去多余的动能。形成的大多数离子对以发射电子的再捕获而终止。使分子处于高激发态,通过内部转化、发光或能量转移释放出能量回到基态。另外,高激发态中性分子可能分裂为自由基。一些离子对可能有足够长的寿命从生成位置扩散开来,并与周围的媒介发生反应。自由基是形成的最重要的反应活性粒子。一旦自由基沿着电离粒子路径形成,就可能相互结合或从受辐射体扩散开与液体介质中的大量分子发生化学反应。那些在受辐射体系内再结合的自由基反应非常迅速,无论采用物理还是化学手段都无法检测到。它们形成稳定的生成物,我们称之为分子产物(molecular yield)。那些从受辐射体扩散出去并与媒介发生反应的自由基可以用物理手段(如电子自旋共振波谱法)和化学方法(如与碘和二苯苦肼基等的自由基清除剂形成化合物)检测到。与自由基清除剂发生反应形成的化合物称为自由基产物(radical yield)。化学辐射作用的机理通常通过比较分子和自由基产物的比值进行测定。液体的辐射化学已从两个不同方向得到发展:水及水溶液的辐射化学和有机液体的辐射化学。能够破坏微生物体的辐射化学过程与前者最为相关,而能够破坏膜及细胞壁的辐射化学事实上与有机液体或一些固体的辐射化学更加相关。

### 5. 水及水溶液

受辐射的纯水能够产生两种解离过程,一种是水分子直接解离成氢原子和羟基自由基:

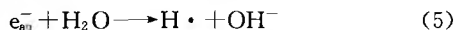


另一种是水分子电离生成 $H^+$ 、羟基自由基和水合电子:

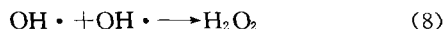
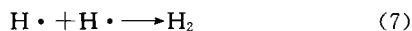


水合电子是一种强还原剂,可以还原水分子和 $H^+$ ,

还原反应式分别如式(5)和式(6)所示。



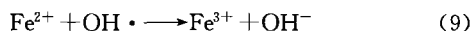
由于当发生直接辐射分解时式(5)和式(6)导致有相同的产物生成,并且由氢原子和水合电子形成的还原产物也可能是相同的,因而预测水溶液中的主要还原粒子是氢原子还是水合电子是不可能的。在酸性溶液中,有理由认为水合电子将只还原  $H^+$ , 因此  $H$  将成为主要的还原粒子。然而,在中性和碱性溶液中,水合电子占主要地位。纯水辐射分解的最终分子产物是氢气和过氧化氢,其反应方程式为



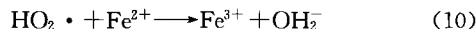
水溶液的辐射化学可以从两个观点进行考虑:第一种称为靶理论(target theory),认为离子辐射对溶质分子有直接作用;第二种将溶质分子的转换归因于水辐射分解形成的活性中间体发生的相互作用。由于大多数水溶液体系较稀,因而第二种在统计学上更为合理。稀释水溶液体系的动力学研究也支持这个推测。水溶液的辐射化学也就成为自由基及  $H \cdot$ 、 $OH \cdot$  和  $e_{aq}^-$  的氧化还原化学。

自由基在水溶液体系中发生化学变化的效应,取决于产生这些自由基的电离辐射的 LET。一方面,对于高 LET 粒子(如  $\alpha$  粒子或质子),沿其很短的路径将产生大量自由基。这些自由基在从其激发物部位扩散开之前很可能再次结合形成分子产物。另一方面,对于低 LET 粒子,沿其轨迹将产生少量自由基。这就使再结合的可能性减小,从而更容易从激发物扩散开发生化学反应。因而,质子和  $\alpha$  粒子可形成高分子产物,而  $\beta$  射线和  $\gamma$  射线可形成高自由基产物。

Fricke 放射量计是最早测定放射剂量的装置之一,建立在硫酸亚铁稀水溶液辐射分解产生的羟基自由基氧化二价铁离子的理论基础上。反应式为



溶解氧的存在改变了受辐射水的氧化还原特性。这是氧“自由基清除”作用的结果。分子氧有两个未成对电子,其中一个可以与氢原子形成共价键,形成过氧自由基( $HO_2 \cdot$ )。这一自由基主要作为氧化剂发挥作用,如:



这一反应的重要结果是,尽管纯净的受辐射水溶液含有近似相同的氧化与还原能力,但在某些情况下,由于还原性氢原子转变为占主导的氧化性过氧基,这些溶液中的氧会产生很强的氧化性。总而言之,由于“专有的氧化性”,水溶液中氧的存在将导致辐射分解的机制发生改变。与缺氧相比,当有氧存在时,辐射对于微生物的破坏作用更加广泛。

## 6. 有机液体

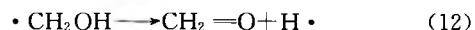
水与有机液体的辐射化学的主要区别在于激发物(即沿电离粒子路径能够产生活性粒子的界限清楚的实体)的

概念变得模糊。水体系中形成的自由基更倾向于发生再结合,而不倾向于形成后与周围粒子发生反应。发生再结合的范围可能用以定义激发物的概念。然而,受辐射有机液体的自由基产物则更倾向于与其直接环境中发生相互作用,并不倾向于再结合。这一结论可以由受辐射有机体系的氢分子收率低得到证实。

碳氢化合物及其衍生物的辐射化学已经得到广泛研究。气态与液态的碳氢化合物辐射分解的主要不同在于,碳碳键的断裂在气态碳氢化合物中是一个重要的起始过程,而在液态中只发生碳氢键的断裂。气态与液态类似反应的另一个重要不同点在于聚合过程。在气态聚合中,自由基清除剂如碘和苯醌等的存在丝毫不会改变聚合产物的生成量;而在液态中,由如氯乙烯等物质受辐射获得的聚合物产量由于自由基清除剂的加入而大大降低。这一事实暗示了液态的聚合反应主要是自由基机制,而气态的聚合反应则主要是离子机制。聚合物受辐射造成聚合物链的交联以及不同聚合物的嫁接。聚合物受到辐射处理后会产相当大的抗张强度和耐热性,这一性质已在商业上得到开发,用于生产耐污染纺织品和耐热塑料容器。

饱和脂肪族化合物受辐射后将导致不饱和、聚合作用和异构化作用。环己烷的辐射分解正好说明了这三种过程。如果自由基能量很高,环己烷的形成可以通过从环己基自由基中氢原子或从另一个环己基自由基中提取氢。如果自由基受热,自由基将发生再结合形成双环己基。发生频率很低的过程是重排,接着捕获氢原子生成甲基环戊烷。

卤烃类受辐射会导致碳—卤键的断裂。碘甲烷的辐射分解产生乙烷和碘分子。液态醇类辐射分解产生醛类和邻位二醇类。例如,甲醇的辐射分解如下:



冻结的醇类受辐射使醇制玻璃变为深色。甲醇变为明亮的紫色,而乙醇则变为蓝色。这些有色玻璃如果保存在黑暗低温条件下是稳定的。暴露在可见光或紫外光下会使醇制玻璃褪色,同时可以观察到有色玻璃电子自旋共振信号的消失。形成的颜色被认为是由玻璃中捕获的自由基吸收光谱引起的。由“漂白”的玻璃生成的产物与那些未曾暴露于光线下的受辐射玻璃的产物是不同的。这一事实说明在可见光和紫外光下,捕获的自由基可能发生了光解作用。

芳香化合物受辐射形成的辐射分解产物远远低于具有相同相对分子质量和官能团的脂肪族化合物。这归因于在提供激发能而不允许分子解离的条件下,电子偏离  $\pi$  轨道的能力。不过,某些辐射分解也会发生。已知苯受辐射产生联苯、苯基环己二烯以及平均组成为  $(C_6H_7)_x$  的聚合物。这一聚合物表现出不饱和烃的性质。二聚体和聚合体的形成也具有其他芳香烃辐射化学的特征。与聚乙烯相比,聚苯乙烯  $-(C_6H_5)CH-CH_2-$ , 交联的阻力更大,这一事实证实了芳香族化合物对辐射作用的稳定性。

芳香族化合物常用来保护其他对辐射敏感的化合物免于辐射分解。例如,通过添加少量苯,可以保护液体环己烷免受广泛的辐射作用。这可能是由于能量由环己烷转移至苯,随后通过芳香族  $\pi$  体系将激发能消散掉。

液体辐射化学的一个最重要特性是电离辐射使大量能量沉积,激发或活性分子在邻近范围形成并可能彼此发生反应。这种情况在光化学中并不存在,但激光激发时除外。

## 固体

药品和手术消耗品受辐射时状态通常为固态。当然,它们的容器也是固态的。因而我们必须考虑某些固体辐射化学。

由于在晶格中原子的位置固定,固体受辐射产生的结果包括原子移位、电子激发和电离。尽管物质的电子变化仅影响其化学性质,固体的原子移位则对晶体的物理性质有更显著的影响。若从其正常晶格位置移出一个原子,辐射粒子必须传递一定能量给该原子。由于原子质量大,因而电子和光子不能使大量原子移位。其他更重的粒子,如  $\alpha$  粒子、质子、氦核和中子在这一过程中则更加有效。此外,不像电离辐射通过静电效应产生末端电子扰乱的主要效应,原子移位所需的主要作用是直接碰撞。

有两种类型的晶格缺陷出现在所有的实际晶体中,并在受辐射晶体中以很高的浓度存在。这两种晶格缺陷就是点缺陷和线缺陷。点缺陷是原子从其正常晶格位置发生移位的结果。发生移位的原子通常占据不在晶格结构中的位点,它们被认为是“填隙”,而留下的空晶格位点则被称为空穴。由阴离子或阳离子移位产生的空穴与其填隙粒子被称为 Frenkel 对或简称 Frenkel 缺陷。在某些情况下,移位离子远离空穴,以至于在晶体表面形成新层。在这种情况下,空穴被称为 Schottky 缺陷。Frenkel 缺陷和 Schottky 缺陷在决定受辐射破坏而改变的固体特性中起着非常重要的作用。

线缺陷(位错)是由晶格滑动或剪切造成的。如果滑动与晶面垂直,因而在断层任一边的晶格平面是平行的,但相对于另一个平面则是发生了移位,这一缺陷被称为边缘位错(edge dislocation)。如果滑动有角度,看起来好像是由绕剪切轴旋转产生的,使得在缺陷两边的晶格平面不是垂直的,这一缺陷被称为螺旋位错(screw dislocation)。

根据支持晶体的原子间力的特性,可将晶体分为四大类:①金属晶体,在该类晶体中,一些原子认为是与价电子形成准离子晶格排列。正是这些价电子在晶体内结合晶格,发生移位,因而不能把它们和原子一样看待。②价键晶体,如金刚石,是由原子通过普通共价作用结合的晶格组成的。这说明价键晶体可以看作是一个庞大的分子。③分子晶体(如萘和水等)是由明确的分子规则排列组成的,这些分子通过范德华力和氢键作用固定在晶格中。④离子晶体,电子定域出现在离子晶体中。离子晶体由交替的正离子和负离子组成晶格,并通过强烈的静电吸引结

合。氯化钠是离子晶体的典型例子。

### 1. 金属晶体

由于金属晶体内电子的离域作用,没有持续性电离和化学分解发生,因为由电子发射形成的正性孔总是被传导带中的电子填充。另一方面,大量的能量辐射能够引起原子移位。间隙原子的产生使晶格发生膨胀,从而降低了晶体的密度。

金属晶体内最明显的辐射危害的证据是电和热传导性的降低。这归因于电子和光子向空穴和间隙中分散,破坏了高传导性所需的晶格次序。

金属晶体中辐射危害的明显作用可以受“退火”逆转。加热受辐射晶体,使其获得足够能量,可以使填隙重新回到空穴处。

### 2. 价键晶体

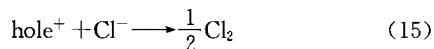
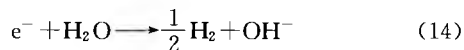
价键晶体中的强键合力使其受辐射也不发生准化学变化,如解聚作用。然而,与金属晶体不同,价键晶体没有传导电子,这就使它们能够保留电子脱位和原子移位。在晶体中由位阱捕获脱位电子(如那些原子空穴所产生的),使普通透明的价键晶体显色。

### 3. 离子晶体

离子晶体受辐射会使原子和电子发生移位。阴离子空穴对移位电子的捕获导致了可见光和近紫外光的吸收,这一吸收赋予了这些晶体的特征色彩。这些假原子电子及其空穴称为色彩中心。

有色离子晶体暴露于可见光或紫外光下,使捕获电子“退火”,并使因受辐射引起的色彩褪色。在晶体受辐射仍保持无色的某些情况下,可以在“退火”过程中观察到热致发光。

受强烈辐射的氯化钠晶体在水中溶解,会使氢和氯从溶液中放出,溶液也变为碱性。这大概是因为捕获的空穴和电子与水发生了反应:



捕获的电子也正是受辐射氯化钠在丙烯腈中能引发聚合反应的原因。

硝酸盐、氯酸盐、高氯酸盐和溴酸盐受辐射会释放出氧。 $KClO_4$  受辐射会由于内部氧的聚集引起晶体爆炸。

### 4. 分子晶体

按照常识,由色散力结合单个分子组成的晶体物质,受辐射会导致其发生辐射分解。例如,固态脂肪族羧酸的辐射分解能够产生氢气、一氧化碳和二氧化碳。这些气体的相对生成量由参与辐射分解的键的强度及其出现频率决定。这些情况也适用于液体和气体,表明不存在专门的固

## F

态效应。

分子晶体中的能量转移似乎是非常确定的现象。仅含有微量并四苯的受辐射晶体显现出并四苯的特征绿色荧光，而并非其主要成分的紫色。如果将该物质溶解于苯中，葱的荧光颜色则成为主要颜色。

冰受辐射则形成捕获的氢、羟基自由基和水合电子。

催化剂表面受辐射，通过在其表面产生缺陷改变它们的特性。在某些具体情况下，这些缺陷已被察觉能够增强和抑制催化剂的活性。例如，硅胶受辐射增加了  $H_2-D_2$  的交换速度。

## 电离辐射的化学保护

向受辐射化学和生物系统中添加某种化合物，能使其受电离辐射的影响最小化。这些化合物或者直接与放射物发生反应，或者更常见地与辐射产生的活性粒子发生反应。通过这种方式，它们使自身变为其他物质，但这种变化能使化学和生物体系保持起初的完整性。

在分子水平上，有几种机理可以说明化学试剂对受辐射体系的保护作用。它们是：①能量与电荷转移，即电离或受激发的分子通过碰撞或共振转移将电荷或多余能量传递给保护分子；②清除，即保护性的自由基清除剂与辐射产生的自由基在攻击系统中其他分子之前发生反应；③复合物形成，即被保护的分子能够形成复合物，这些复合物比原来物质更易或更不易受到辐射破坏的影响。

### 1. 能量与电荷转移

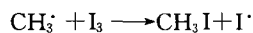
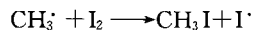
要产生保护作用，电荷或激发能量的传递必须足够快，快到能够与解离过程竞争。在某些情况下，活性分子在  $10^{-14}$  s 内解离，这个时间正好是一个分子的振动周期。然而，特殊价键的能量定域通常需要  $10^{-13} \sim 10^{-9}$  s。要从活化分子中有效地转移能量或电荷，保护剂应当有略低些的电离电势或激发电势。在液体体系中，电荷转移的速率受到扩散的限制，在这种情况下，供体与受体必须有良好的接触。然而，激发能够通过相距  $70\text{\AA}$  的分子的共振能转移（一种偶极-偶极作用）无辐射地交换。这一过程比荧光迅速，可与解离有利地进行竞争。共振类型的传递过程在晶体物质中极其有效。晶体物质的高度秩序使激发能以激发子的形式传递。激发子在比其振动弛豫时间还短的时间内横穿晶体。晶体结构提供传导带使电荷转移变得很容易，这种传导带使电子可以自由移动。

分子内的能量转换可以降低分子分解的概率；能量可以广泛传递，以至于在任一个键中的定域变得不可能。芳香族化合物具有保护性，因为它们可能通过广泛离域的  $\pi$  体系分散获得的激发能。

### 2. 清除中间体

某些容易与自由基发生反应的化合物的添加能够有效防止电离辐射产物在系统中再次遭到破坏。分子碘是一种

非常有效的自由基清除剂，它与自由基形成碘复合物，剩余的碘原子可以作进一步清除的清除剂，例如：



氧是一种双自由基，通过与其他自由基作用形成新的自由基来增强辐射破坏。举个例子，氢原子的清除是通过与氧分子形成过氧自由基实现的。

### 3. 复合物

某些化合物可以通过与系统中的原有分子反应形成分子复合物的方式来产生保护作用。这些复合物可能对辐射分解，或其他游离基的进攻不敏感，或比原有化合物能更好地传递电荷和激发能。例如，聚异丁烯的辐射分解作用由于苯乙烯的共聚作用而降低。吡啶环的辐射抗性通过与钒和其他金属络合得到提高。

化学方法避免体系受电离辐射作用的最明显应用是对生物体系。对于实际应用于生物体系的保护剂，必须在保护浓度下无毒、广泛分布、在受到辐射之前长期保持完整。许多物质已应用于这一方面。到目前为止，最有效的保护剂为半胱氨酸等化合物，因为其结构中的一SH 具有“清除”特性， $-NH_2$  易于发生氧化作用。

药物和医疗消耗品中的外来杂质可能会成为能量转移受体、清除剂或络合剂，由于其辐射防护作用使得辐射灭菌更加困难。

## 具有生物学意义的分子

电离辐射作用于活细胞内的化合物引起化学转变，使细胞突变或死亡，有两种截然不同的作用机理。第一种为靶理论，该理论仅认为那些对生物学意义上的分子产生直接辐射的情况是重要的。在许多情况下，有迹象表明生物体受损坏的程度与辐射量成对数关系变化。这说明细胞可能受到损坏的程度与辐射敏感的、未受损且能够起反应的分子数量成比例。另一种理论是基于入射辐射与受影响的生物学意义上的分子之间的间接关系。在这一理论中，溶剂、水与辐射相互作用，形成离子和自由基。反过来，这些活性粒子与生物学意义上的分子相互作用，引起辐射破坏。在这一理论下，辐射生物学仅是水溶液辐射化学的一个分支。有证据显示靶理论和间接辐射过程都是存在的。

在这一部分中，将提及电离辐射对具有生物学意义的分子的作用以及这些分子的辐射化学与观察到的生命体的辐射效应之间的关系。

### 1. 碳水化合物

碳水化合物的水溶液受辐射后产生与乙醇相同的效应，羟基受到进攻产生羰基化合物。在缺氧条件下，形成二聚物，最终形成聚合物。碳水化合物的伯醇基团对辐射尤其敏感。甘露醇极易氧化为甘露糖，山梨醇易氧化为葡萄糖。虽然伯醇基团的氧化偏好有氧条件，但大量仲醇基团的氧

化则偏向于缺氧条件。

多糖受辐射主要引起分解。这正好解释了为什么水果和蔬菜受辐射会变软的道理。这一分解现象不仅存在于溶液，也存在于固态。

## 2. 氨基酸和多肽

氨基酸受辐射会引起氨基和羧基的转变。在干燥状态下，甘氨酸受辐射脱去羧基形成甲胺；然而在稀释的水溶液中，氨基酸水解形成乙醛酸、乙酸和甲醛。当溶液浓度超过 2% 时，甲胺又成为重要的产物。其他氨基酸的辐射分解行为与氨基乙酸相似。例如，丙氨酸在干燥状态形成乙胺和二氧化碳，在水溶液中形成丙酮酸和氨水。

芳香族氨基酸在水溶液中受辐射典型地产生芳香化合物和氨基酸。苯丙氨酸在充气溶液中脱去氨基形成酮，而芳香环在辐射分解中保持相对稳定。

多肽受辐射发生与氨基酸相同的化学反应，但也会有肽键的断裂。在水溶液中，无论是否有游离氨基存在，所有的多肽都会形成氨。

含有硫醇和二巯基的氨基酸在干燥状态受辐射时降解为酮酸，并生成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{S}$ 。然而，在溶液状态下，硫醇基和二巯基是良好的自由基清除剂，自由基与其作用可预防去氨基作用。含有硫醇基的氨基酸受辐射最终结果是氧化为二硫化物。如此，半胱氨酸水溶液受辐射的产物是胱氨酸。二硫化物受辐射生成更高一级的氧化产物。例如，胱氨酸在水溶液中生成二亚砷胱氨酸。二硫化物还原为硫醇的反应没有发生。

## 3. 蛋白质和酶

蛋白质受辐射在—S—S—键位点处形成自由基。蛋白质中的芳香族氨基酸也容易受到辐射作用的影响，发生脱羧和脱氨基作用。多肽键的断裂是蛋白质辐射分解的特征。对于酶来说，肽键的断裂伴随着酶生物活性的降低。即便辐射停止，生物活性依然降低了。干燥状态与溶液状态下的辐射分解机制不同，但结果是相似的。它们之间最重要的不同是在干燥状态下蛋白质降解，而在溶液中交联使相对分子质量增加。总而言之，蛋白质和酶的辐射化学可以看成是多肽和氨基酸的特殊情况。

## 4. 呼吸蛋白质、维生素和辅酶

### 4.1 呼吸蛋白质

这些物质是铁、卟啉和蛋白质的复合物。当这些物质受辐射时，卟啉环或蛋白质会发生反应，但总会伴随着铁的氧化或还原。高铁细胞色素 C 中的铁在中性条件下还原为亚铁，在酸性条件下则还原为三价铁。血色素和氧化血色素都从亚铁氧化为三价铁，破坏了运输氧的特性。大量辐射可以攻击卟啉环并使蛋白质变性。干燥状态的血色素在缺氧情况下受辐射时，不能被氧化，但由于蛋白质变性，在水中变为不溶。肌红蛋白与血色素发生的变化相同，但

比血色素对于辐射的敏感度更高。肌红蛋白是一种相对分子质量超过血色素 10 倍、含铜的呼吸蛋白质。在这种情况下，对分子的蛋白质部分的进攻是主要的。

### 4.2 维生素和辅酶

辅酶 I（二磷酸吡啶核苷酸）受辐射会引起吡啶-羧基-酰胺环的还原，其还原产物可能为对辐射敏感的二聚物。

B 族维生素（硫胺和核黄素）在稀释的水溶液中受辐射会破坏。核黄素在无空气的水溶液中还原为半醌形式。烟酸在空气饱和的水溶液中受辐射脱去羧基。

对氨基苯甲酸在水溶液中受辐射脱去氨基和羧基。磺胺和磺胺噻唑失去活性可能是由于脱氨基作用。维生素  $\text{B}_{12}$  中的钴受辐射由 +3 价还原为 +2 价。

植物激素植物生长素对辐射较敏感。植物生长素  $\beta$ -吲哚乙酸受辐射的产物类似于吲哚辐射分解得到的聚合物。

## 5. 核酸

核酸 DNA 和 RNA 主要用于基因信息的传递和蛋白质的合成。这些过程依靠嘌呤和嘧啶碱基的排序得以完成。碱基连接在由磷脂酯键连接的分子主链上。大分子主链主要由核糖（5-碳糖）分子与磷酸单元相互连接成长链。嘌呤和嘧啶碱基连接在主链的核糖位点。DNA 分子由两条双螺旋链组成。这两条核苷酸链通过互补链上的嘌呤嘧啶碱基对之间的氢键作用结合。

核酸受辐射引起维持 DNA 双螺旋链的氢键断裂，使嘌呤和嘧啶碱基脱氨基和羟基，糖键断裂，释放嘌呤碱基，破坏嘧啶碱基，氧化糖基部分，并且随着无机磷酸盐的释放，核苷链断裂。在氧气存在的情况下，辐射引起嘧啶碱基而非嘌呤碱基的过氧化氢物的生成。

一般而言，嘌呤碱基对辐射的稳定性远远强于嘧啶碱基。这可能是因为嘌呤有更高的  $\pi$  键离域能，为非破坏性能量消散提供路径。此外，嘧啶碱基进行自由基反应比嘌呤碱基更加容易。腺嘌呤 > 鸟嘌呤 > 胞嘧啶 > 尿嘧啶 > 胸腺嘧啶这一顺序是按照对辐射的相对稳定性排列的。在有氧存在的水溶液中，尿嘧啶和胸腺嘧啶形成稳定的氢过氧化物，而胞嘧啶则形成不稳定的易分解成许多种产物的氢过氧化物。

固体状态的 DNA 在液氮温度下受辐射产生自由基，在这个过程中，电子自旋共振测量结果说明，未成对自旋电子在整条链上发生离域，不属于大分子的任何一个单位。向该体系中加入少量的水不会改变产生的 DNA 自由基的特性，但是加入两倍量的水会引起 DNA 电子自旋共振信号的猝灭，这是由于出现水自由基的强烈信号。这种保护效应被认为归因于能量转移，这在有额外水存在时通过水的构建来实现，因而为离域的水自由基或激发子的形成提供了途径。受辐射核蛋白质溶液的电子自旋共振研究表明，蛋白质承受了大部分的辐射破坏，保护了核酸部分。

核酸及其组分受电离辐射引起的破坏对遗传信息的传



## F

递明显是有害的。这种遗传信息的传递是依靠 DNA 链上完整嘌呤和嘧啶碱基的特定顺序进行的。这些碱基和 DNA 分子的改变会引起突变和致死基因。RNA 分子的断裂会干扰蛋白质合成,最终导致细胞死亡。

## 生物系统对电离辐射的反应

### 1. 关键靶点的确认

如前所述,电离辐射能的吸收取决于物质的密度和组成原子的相对原子质量。与紫外和可见光吸收相比,电离辐射的吸收事实上与分子结构特性无关。因而,生物系统中电离辐射能的释放在本质上与不同生物分子包含的分子价键无关。这使判断这种类型辐射的关键作用变得复杂。要很好理解活细胞的电离辐射,需要了解生物学意义上的重要作用。

确定电离辐射引起生物死亡和突变作用的关键位点,需要设计生物学实验回答这些问题。作为电离辐射作用的关键位点必须具备几个标准要素,包括:①相对较大的尺寸;②在细胞中有一个或只有少数几个拷贝;③对细胞的生长和生存起关键作用。前两条标准来源于细胞损坏事件的统计分布。由靶理论可知,电离辐射释放的能量的物理分布符合泊松统计分布。因此,最易受损的靶对象是那些符合前两条标准的对象。能够同时满足三个标准的两种细胞成分是染色体(DNA)和细胞膜。

### 2. 证实 DNA 是关键靶点的依据

每个细胞中仅有一个或少数几个染色体组拷贝,且与其他分子成分相比,染色体的体积庞大,在细胞繁殖与生存中起关键作用。基于这些原因,DNA 被认为是电离辐射的一个关键靶点。

证明 DNA 是电离辐射生物作用关键靶点的最有力的实验依据是电离辐射的诱变效应与修补缺陷型细菌和培养的哺乳动物细胞中突变种 DNA 的存在。这些细胞对电离辐射致死作用高度敏感。

细胞遗传信息是由染色体 DNA 的碱基顺序决定的,DNA 碱基顺序的任何改变(如前所述的 DNA 碱基受损)都会导致碱基序列的改变,因而可能发生突变。碱基序列的改变是否引起表型变化取决于发生碱基变化的部位。如果这种变化发生在 DNA 的关键区段,即蛋白质产物或某些功能性或结构 RNA 产物(tRNA 或 rRNA)的基因编码区段,那么这种碱基变化就会引起表型突变。否则,突变表现为另一种“无效突变”类型,即指那些与表型改变无关的遗传型变异。无论发生哪种突变,DNA 都是必然发生突变的成分。

了解辐射法如何杀死生物体系的一个重大进展包括发现某些细胞对辐射杀伤作用比其他细胞更加灵敏。这一发现最先在紫外辐射杀菌中观察到。在紫外辐射下,很容易确定对紫外辐射具有不同敏感性的细胞作用靶点是 DNA,

更明确地说,是形成链内环丁烷嘧啶二聚物(或者较少的是链间聚合物)的结果。有几种因素可以帮助证实这种类型的破坏作用。第一,嘧啶在 260nm 紫外波长处具有较强的吸收,紫外辐射在这个波长处或附近杀灭作用最有效;第二,对于这种破坏作用,有灵敏的定量分析方法可以使用。因此,定量测量生化破坏作用是可能的,而且还可以建立其与紫外辐射的生物杀灭作用的相互关系。

几十年后(19 世纪 60 年代),人们又发现了细菌对电离辐射存在与紫外辐射相同的敏感度差异,并发现造成这种敏感度差异的生化破坏是由 DNA 主链上的单链断裂决定的。DNA 链的断裂可以通过灵敏的琼脂糖凝胶电泳法测定,因而可以建立产生链断裂与细胞死亡率之间的定量关系。另外,可以完成对辐射敏感变种的分离。这些变种缺乏有效修补断裂链的能力。这样,就有力证实了链破坏与电离辐射的灭菌作用相关。

### 3. 证实细胞膜是关键靶点的依据

细胞膜是细胞生存的关键条件,其表面积很大,且一个细胞只有一个细胞膜,因此细胞膜所具有的重要特性,使其成为电离辐射杀菌作用的关键靶点。细胞膜在电离辐射致死作用中所扮演角色的实验证据,包括观察到氧气能增加细胞对电离辐射杀伤作用的敏感度。在射线照射时,氧气的放射敏化作用通常被称作氧气效应,对杀灭细菌、哺乳动物细胞和植物细胞效果较好,但对病毒无效。同样,氧气效应用于游离 DNA(病毒或转化 DNA)的电离辐射生物灭活作用也是无效的。

由于对氧气效应的不同反应,通常电离辐射的灭菌作用包括依氧破坏和厌氧破坏。任何一种方式都能灭菌。厌氧破坏是指作用于 DNA 靶点的破坏,而依氧破坏则指作用于细胞膜靶点的破坏。特别是在有氧条件下电离辐射的灭菌作用比缺氧条件下要高 2~4 倍。因此,预测有 50%~75%的电离辐射致死作用来自于膜破坏。由于氧气效应的存在,电离辐射必须有氧气存在。

### 4. 不同生物系统对电离辐射灭菌的相对敏感度

设计一个采用电离辐射法对溶液或物质灭菌的试验方案,必须确定杀灭所有生物有机体所需的照射剂量,也称为杀菌剂量。对不同生物系统辐射敏感度的测量已有大量数据可供。对于药品来说,当确定某一特定产品灭菌所需的照射剂量时,考虑病毒、病原细菌和其他致病微生物是很重要的。由于前述原因,确定物质的辐射剂量时,考虑引起辐射敏感度变化的物理和化学环境因素也是非常必要的。一般而言,对辐射最具抵抗力的生物系统是病毒。某些细菌物种(如耐辐射微球菌)也具有和病毒一样的辐射抵抗力。这些抗辐射细菌的 37%存活剂量将近达到 20kGy(2Mrad)。

## 微生物存活曲线

药品电离辐射处理的最终目标是杀灭所有的活体,即



对产品进行灭菌。要达到这个目的,理解辐射灭菌的微生物存活曲线是至关重要的。图2表示可能观察到的多种微生物存活曲线。图中各个轴均无数字坐标,因为只有辐射灭菌的总动力学响应才是有用的。曲线a和b表示两种具有相同杀灭速度但修复能力不同的假想微生物。具有致命损伤修复能力的微生物有一个特征性阈剂量,低于阈剂量的微生物可以在辐射条件下完全存活。随着辐射剂量的增加,修复系统不能完全修复所有的辐射破坏,且随着辐射剂量的增加,微生物总体的生存能力呈指数下降。此外,在关键靶点处的多次电离或在多靶点处的电离,都会引起阈剂量,低于这个阈剂量值时,则观测不到辐射灭菌。

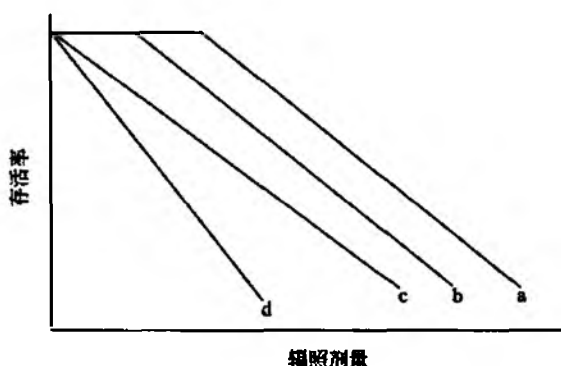


图2 微生物的存活曲线

曲线c和d表示的微生物杀灭作用缺少曲线a和b的平台区。d微生物存活曲线的斜率大于微生物c,因为微生物d对辐射灭菌的敏感度高于c。两种微生物在阈剂量和辐射灭活动力学上可能存在不同。当设计辐射灭菌方案时,应该考虑微生物灭活曲线的形状和灭活速度。

## 电离辐射在人用灭菌制剂制备方面的应用

在本章中,虽然有几个包装材料已获得批准在5~25kGy的剂量范围内进行灭菌,但是对医药品的电离辐射灭菌并没有获得批准的程序。美国食品药品监督管理局(FDA)正在考虑制定标准,允许在人用药品最终灭菌中使用电离辐射。被列入考虑范围的两个程序是无菌操作和无菌药品制备的最终灭菌。这两种方法在灭菌方式上存在差异。就无菌操作而言,产品和容器应分别消毒灭菌,最后,在无菌条件下对产品进行包装,而最终灭菌则是对最终包装好的产品进行消毒灭菌。FDA倾向于采用最终灭菌方法,因为采用这项技术与采用无菌操作技术相比,失败概率极低。当采用最终灭菌时,在无菌条件下将产品转移至已消毒容器中的步骤可以省略,因而避免了产品污染的可能性。某些药品公认不能使用最终灭菌的处理方法,因为这些药品对杀菌剂较敏感,易变质失活,但在溶液状态下,可以通过过滤的方法进行灭菌。

FDA正在商讨将何种技术作为药物制剂的灭菌方法,

讨论的两种物理方法是加热法和电离辐射法。电离辐射在食品加工方面的应用也引起了类似的关注。经过广泛讨论和听取意见,FDA已经批准电离辐射作为商业用途,用以处理水果、蔬菜、家禽、牛肉和香料。在这项技术得到FDA批准成为药品灭菌方法之前,也必须先广泛地征求意见。当发展一个使用电离辐射的方案时,首要问题是确立最大和最小容许照射剂量。

为确保产品暴露在充分高的剂量下灭菌,必须确立最小剂量的限度。最大剂量限度的确立可以避免产品由于暴露在不必要高照射剂量下引起的损坏。在FDA法规中,食品加工的照射剂量限度包括最小和最大可接受剂量限度,确立这些限度也正是因为这些原因。

关于电离辐射对药品的作用及其灭菌行为的实验研究表明,电离辐射有望成为最终灭菌的处理方法。有文章报道,青霉素G、新霉素、新生霉素和双氢链霉素在辐射下不会生成新产物,这与这些抗生素经过酸、碱、水解和氧化处理后形成产物不同。在相同的照射剂量下,活性细菌芽孢数量减少一百万倍,这些芽孢是细菌内生芽孢对放射的最敏感形式。因此,应用电离辐射可以替代加热或化学处理进行药品灭菌,也对热敏感药物的灭菌问题提供了解决方案。同时,不使用化学灭菌法也可避免由于化学残留引起的污染问题。已有报道表明,抗生素头孢噻肟受辐射时,由于样品中杂质的存在,形成了放射产物。当考虑药物灭菌过程中产生的辐射分解变化时,除了药物本身,一定还要清楚溶剂和化学试剂的作用。

## 结论

本章的目的是为医药工业提供一个关于电离辐射的物理、化学及生物学作用的总体看法,同时预测电离辐射作为人用药物物理灭菌方法的应用前景。采用电离辐射对药品进行灭菌的好处如下:

- (1) 对所有微生物均有效;
- (2) 在处理过程中温度不上升;
- (3) 一致的、可重现的试验方案;
- (4) 方法易控,可验证。

尽管FDA目前还没有认可电离辐射灭菌法,但有关部门还在积极听取相关意见。考虑到FDA鼓励采用最终灭菌法进行医药品的消毒,以及如前所述电离辐射和其他方法相比在最终灭菌中具有明显优势,人们期望管理听证会在获得充分的信息以确定应用这种方法的合适条件之后,这种方法能够被批准用作人用药品物理灭菌方法。关于电离辐射灭菌应用的最新进展可参见以下网址:<http://www.iaea.org> 和 <http://www.fda.gov>。

## 参考文献

1. Alper, T. Cellular Radiobiology 1979.
2. Barbarin, N.; Rollmann, B.; Tilquin, B. Role of Residual Solvents in the Formation of Volatile Compounds after

- Radiosterilization of Cefotaxime. *Int. J. Pharm.* 1999, 178, 203—212.
3. Chemical Protection from Radiation Effects. *Nucleonics* 1960, 18, 76—81.
4. Derr D. , Radiation Processing What Is It? Where Is It Going? *ASTM Standardization News* 1993, 25—27
5. Ebert, M. , Howards, A. Eds. ; *Radiation Effects in Physics, Chemistry and Biology*; Year Book Medical Publishers; Chicago, 1963.
6. Pullman, B. ; Pullman, A. *Quantum Biochemistry*; John Wiley & Sons; New York, 1963; 267—283.
7. Radiation Chemistry. *Nucleonics* 1961, 19, 37—68.
8. Schwarz, H. A. Radiation Chemistry. *Ann. Rev. Phys. Chem.* 1965, 16, 347—374.
9. Stock, D. A. ; Achey, P. M. Repair of Single-Strand Breaks in DNA from Cultured Leptidopteran Cells Exposed to Gamma Radiation. *Invertebrate Cell System Applications*; Mitsuhashi, J. Ed. ; CRC Press; 1989; 1, 45—61.
10. State of the Art Symposium, Radiation Chemistry. *J. Chem. Ed.* ; 1981, 58, 82.
11. Swallow, A. J. *Radiation Chemistry of Organic Compounds*; Pergamon Press; London, 1960.
12. Symposium on the Development of Radiation Chemistry. *J. Chem. Ed.* ; 1995, 36.
13. Tiliquin, B. ; Crucq, A. S. Les Mecanismes Chimiques De La Radiosterilisation De Medicaments Solides. *J. Chim. Phys.* 1999, 96, 167—173.
14. Use of Aseptic Processing and Terminal Sterilization, the Preparation of Sterile Pharmaceuticals for Human and Veterinary Use. *Federal Register*, 1991; 56, No. 198, 51354—51358, October, 11, 1991.

(闻洪亮 陈 阳 译)

# 赋形剂：安全性评价

Marshall Steinberg

International Pharmaceutical Excipients Council-Americas, Virginia, U. S. A.

Florence K. Kinoshita

Hercules Incorporated, Arlington, Virginia, U. S. A.

## 引言

药用赋形剂的安全性分为三个方面，即质量、毒理及不恰当的使用<sup>[1]</sup>。各个管理当局都把注意力放在质量这方面。此外，国际药用赋形剂委员会（IPEC）依照国际标准化组织（ISO）9000 构架发布了有关这些安全性的指南。IPEC 是一个世界性的工业协会，有超过 200 个从事开发、制造、销售和使用药用赋形剂的药物、化学和食品加工企业的成员。IPEC 由三个区域性组织构成，分别位于美国、欧洲和日本。

### 1. 质量

上述 IPEC 有关质量的指南包括：

- (1) 优良的药用赋形剂生产指南；
- (2) 药用赋形剂销售商的 GMP 审查指南；
- (3) 药用赋形剂 IPEC-美国的重大变化的指南；
- (4) 药用赋形剂供货者的 GMP 审查指南；
- (5) 新赋形剂安全性评价指南；
- (6) 杂质性质研究的 IPEC-美国指南；
- (7) 分析报告所需的内容及格式。

第 24 版《美国药典》/第 19 版《国家处方集》收载 IPEC-美国安全性指南（修订版）<sup>[2]</sup>和药用赋形剂 GMP 制造指南。WHO 也将此作为其国际成员国的指导依据<sup>[3]</sup>，IPEC 希望这些指南能辐射至美国、欧共体和日本相关领域和责任部门。换言之，若指南一致的话，符合该指南要求的赋形剂能在世界上这三个地区销售和使用。使用这些指南和其他国家指南，保证了赋形剂的质量。

指南使用 ISO9000 模式，不仅提供了一种方法来评估系统是否恰当，还提供了一种评价系统有效性的方法。此外，还能指导对赋形剂生产制造过程的审查<sup>[4]</sup>及它们的销售和重包装的审查<sup>[5]</sup>。

### 2. 国际协调联合会的残留溶剂指南

国际协调联合会（ICH）在 1999 年出版的指南中<sup>[6]</sup>，特别指出了赋形剂的杂质限度和如何对赋形剂制造中的这个重要方面进行评价。残留溶剂水平不得超过 ICH1999 年发布的残留溶剂指南规定的指标。溶剂分为三类：

(1) I 类溶剂：应避免使用。包括已知对人类致癌的、强烈怀疑对人致癌的溶剂和对环境有危害的溶剂。

(2) II 类溶剂：应限制使用。包括非生殖毒的动物致癌物、可能造成其他不可逆转毒性（如神经毒性或致畸性）的溶剂、疑似有其他显著的但可逆转毒性的溶剂。

(3) III 类溶剂：有潜在低毒性的溶剂。包括对人类有潜在低毒性的溶剂，无须限制对人体健康的暴露量，III 类溶剂允许每日暴露不超过 50mg。

### 3. IPEC 重大变化指南

重大变化和分析报告是与赋形剂制造厂和用户有关的两部分。赋形剂制造厂改变赋形剂正常的物理、化学性质或改变赋形剂在制剂中的行为都被认为是重大变化<sup>[7]</sup>，不管是否有法规的要求，都应通告地方管理当局。制造厂有义务将重大变化通告用户，使用户能评估该变化对其产品的影响。重大变化指南对评估包括赋形剂制造在内的重大变化做了周密的考虑。变化的类型包括：

- (1) 生产场所；
- (2) 生产规模；
- (3) 装备；
- (4) 生产过程；
- (5) 包装；
- (6) 规格。

评价变化对赋形剂的影响，就如在 IPEC 药用赋形剂 GMP 指南中所指出的那样，从按照 GMP 生产开始阶段到以后的生产过程中始终存在。指南中的评价标准包括：

- (1) 该变化引起的赋形剂的化学性质的变化；
- (2) 该变化引起的赋形剂的物理性质的变化；
- (3) 该变化引起的赋形剂杂质的变化；
- (4) 该变化引起的赋形剂功能的变化；
- (5) 该变化引起的赋形剂水分的变化；
- (6) 该变化引起的赋形剂生物污染的变化。

当考虑到由于任何变化引起的赋形剂杂质含量变化的情况时，该指南也规定了客观标准需要考虑的事项。IPEC-美国起草了赋形剂杂质含量的制剂指南，具体如下：

- (1) 所有已知的有机杂质；
- (2)  $\geq 0.1\%$  未鉴别的有机杂质，不论已知与否，除非已知的该杂质药理作用或已知在较低水平也不安全；
- (3) 残留溶剂；
- (4) 无机杂质；
- (5) 毒性杂质。

杂质的含量随赋形剂性质、制造过程使用的原材料以

及它的化学组分而发生变化。当新产生杂质的质量浓度大于等于 0.1%，或原先存在的质量浓度大于等于 0.1% 的杂质消失时，都被认为是重大的变化。

#### 4. IPEC 分析报告指南

第二个内容是分析报告，是制造厂在运送赋形剂时必须提供给制剂配方者的。分析报告通常并不包含所递交的该特定批号的分析结果信息。分析报告可能是以前各批的或者可能是以前各批的混合物。指南中未明确地说明报告应该提供什么信息和报告如何来表示。指南中有相关的建议<sup>[6]</sup>。写本文时，美国食品药品监督管理局（FDA）还没有解决抽样频次。某些人认为，没有重大变化就没有必要每个生产批号都抽样，但是必须有足够的采样以保证采样结果有统计学意义。假如是连续生产的，那么抽样就是按照生产时间或生产量来抽样，而不是按照生产批次抽样。

### 赋形剂用法

大约有 8000 种“惰性”成分在世界各地用于食品、化妆品和药品中，1996 年大约有 800 种赋形剂用于美国市售药品中<sup>[1]</sup>。尽管 FDA 有一份无活性赋形剂的目录，欧共体和其他欧洲国家在努力，但至今尚无官方的赋形剂目录。

少数赋形剂是专门为药用制造的，大多数用于其他用途（如食品、化妆品、颜料增稠剂、建筑业等）。如为药用，其质量、功能 and 安全性必须满足药用的要求。

赋形剂的不恰当使用，在一定程度上，可以通过在药品的包装中加入使用说明来提示。重要的是要告诉消费者和使用者要阅读并遵照使用说明来使用。

### 赋形剂的定义

按毒理学观点，定义赋形剂为无活性成分是不恰当的。较合适的赋形剂<sup>[9]</sup>定义为“不同于活性药物或前体药物，经过合适的安全性评价并且是包含在给药系统中起到下列作用的物质：

- (1) 给药系统制造时的工艺操作助剂；
- (2) 保护、支持或提高稳定性、生物有效性；
- (3) 有助于产品鉴别；
- (4) 增加药物在储存和使用中的安全性和有效性。

正如第 (4) 条定义指出，赋形剂包括多种作用，从剂型释放者到吸收促进剂。最近，包括可使大分子物质（如蛋白质）从胃肠道吸收而不降解的物质。赋形剂的大多数作用是物理的，而不是药理。

### 赋形剂的批准

当前，管理机构尚未专门对赋形剂<sup>[10-12]</sup>建立安全评价指南。按照美国法律，一个新的药用赋形剂，不同于活性

药物，尚无注册状态，除非在最终的药物剂型中所用的组分已被一个或几个机构批准。批准的途径包括：

- 按照 CFR21 的 182、184 和 186，公认为安全的 (GRAS) 判定；
- 批准符合 21CFR 171 规定的食品添加剂的申请；
- 包括在新药申请 (NDA) 中，作为特殊的药物产品和特别的功能或在该制剂中所用的材料而批准。

在欧共体，新化学赋形剂与新活性成分一样对待<sup>[14]</sup>。

### 毒性试验

对大部分赋形剂而言，其性质代表了毒性试验的特有问题。许多赋形剂的作用是物理作用，而不是生理作用。调味品例外<sup>[12]</sup>。大多数人认为赋形剂应是无药理活性的，仅起物理作用。尽管在高低剂量范围都能保持所需功能，但毒性高的赋形剂是没用使用价值的。传统赋形剂可接受的风险与制剂中的活性成分相比，有数个数量级的差别。除非一个赋形剂有某些非常独特的性质，否则，不大可能开发一个在使用条件下毒性和副作用无保证的新赋形剂。

现今的赋形剂复杂多样，并且对其功能增加了全新的要求。可以想象，应该制订赋形剂和“Co-drug”之间的区别。单克隆抗体被用来传递活性成分至特定组织，应认为是赋形剂多样性的一个例子。

为了取得赋形剂独立地位，作为 IPEC-美国程序的一部分，1994 年成立了安全委员会。该委员会由来自医学和化学领域的专家组成，由他们指导制定新赋形剂的安全性指南。该指南于 1996 年颁布<sup>[12]</sup>。此时，在大多数发达国家的管理中，赋形剂尚未单独注册管理。例如，在美国，对于赋形剂的药物主文件 (DMF) 仅作为 NDA 过程的一部分。当前，假定在一个已批准的药物剂型中的赋形剂，也能在其他剂型中被认可，那么最终被收录至国家处方集 (NF)。NF 专论提供了赋形剂标准/规格用于鉴别、纯度检查和分析。重点收录的是获得 NDA 批准的配方和批准用于食品的赋形剂。FDA 更倾向于同意商业已应用的赋形剂，如食品添加剂和被 GRAS 指定的物质。

IPEC-美国<sup>[12]</sup>制订的指南指定了所需的试验，该试验是根据给药途径和使用时间而定。对所有候选赋形剂都需要提供一组基本数据。指南要求提供赋形剂的理化性质的综述、暴露条件（包括剂量、时间、频率、途径和使用人群）和有无药理活性的文献资料综述。

不鼓励使用活动物做实验，但它的替代程序需要经过验证。这些资料将提供足够的信息供安全性评价，并被管理机构所接受。研究应遵从法规，按照试验的专业规范进行<sup>[15]</sup>，所有提交的试验资料应符合该机构的 GLP 要求。

口服和（或）其他途径，急性毒性试验是最基本的试验（表 1）。不管所选赋形剂的使用途径如何，都应进行皮肤和眼刺激试验。这些数据是为了保护研究者在研究和生产这些物质时的安全。

表 1 IPEC-美国安全性试验指南摘要

试验	给药途径（对人的暴露途径）					
	口服	黏膜透皮	局部注射	肺吸入	鼻腔	眼
基本毒性资料						
急性口服毒性	R	R	R	R	R	R
急性皮下毒性	R	R	R	R	R	R
急性吸入毒性	C	C	C	C	R	C
眼刺激	R	R	R	R	R	R
皮肤刺激	R	R	R	R	R	R
皮肤过敏	R	R	R	R	R	R
急性注射毒性	—	—	—	R	—	—
应用部位评价	—	R	R	R	R	—
肺部过敏	—	—	—	—	R	—
光毒性/变态反应	—	—	R	—	—	—
细菌基因突变	R	R	R	R	R	R
染色体损伤	R	R	R	R	R	R
ADME-预期途径	R	R	R	R	R	R
预期途径 28 天毒性（2 种）	R	R	R	R	R	R
附加资料：短期或中等周期重复使用						
90 天毒性（最恰当的种类）	R	R	R	R	R	R
致畸	R	R	R	R	R	R
附加的分析 <sup>1)</sup>	C	C	C	C	C	C
遗传毒性	R	R	R	R	R	R
免疫抑制 <sup>[3]</sup>	R	C	C	R	R	R
附加资料：中长期或慢性使用						
慢性毒性（啮齿、非啮齿动物）	C	C	C	C	C	C
一代生殖	R	R	R	R	R	R
光致癌性	—	—	C	—	—	—
致癌性	C	C	C	C	C	C

1) 附加试验取决于数据评价者的判断，他们不仅关注内分泌调节，更关注动物试验中发生的现象是否与人类有关（摘自参考文献[12]，p53）。

注：R 代表必做的；C 代表可选做的。

吸收/分布/代谢/排泄/药效学被认为是基本数据，突变性试验（如 Ames 试验、体内染色体畸变试验和小鼠微核试验）也是如此。分别在啮齿和非啮齿两种动物身上选用适当的用药途径，进行 28 天重复给药研究。

IPEC 方法的独特之处在于并不需要进行所有试验，某些试验是有选择性的，系根据其他试验过程中的发现而定。特别要注意暴露途径以及可能要增加暴露时间的试验。

应强调动物试验的暴露途径应与预期在人体上的途径一致，严密注意暴露类型。如评价一个吸入治疗物质的试验方案，长到暴露一天吸入几个小时与每天暴露几个剂量是完全不同的。某些试验只能采用不同的应用途径，这是由试验动物的特性决定的（如兔子的生殖试验所需的剂型不同于吸入剂，即使吸入剂含有赋形剂成分）。

IPEC-美国指南强调，未经专业训练者不能使用该指南。此外，指南不能作清单用。指南是给专业的有资格的人员用于必要的判断什么是“可选择的”试验，因为这些试验的进行取决于其他试验的结果。要考虑一些有效的细胞和亚细胞技术和动物试验的发展的多样性，而传统的长期的不精确的试验可能会产生与其他有效试验不相关的信息。同样，某些化学试验会产生错误的阳性的不正确的结

果，或在某些动物种身上产生有疑问的结果，这些数据只会产生误导，需要附加的试验来澄清。

可以想象，某些赋形剂不需要常规的两种啮齿类动物长达两年的致癌研究。这些赋形剂包括那些不被吸收（或快速被代谢、快速被排泄）、在 90 天研究中不显示毒性和那些基因毒性呈阴性反应的赋形剂。这是 IPEC-美国安全委员会采用的方法，原因之一是，1996 年联名综述的期刊文章<sup>[12]</sup>指出，啮齿类致癌性研究是有条件的。传统上是 50 个啮齿类动物按雌雄分组进行 18 或 24 个月的致癌性研究或变异性研究。确定这项试验有条件进行的依据是基于其他模型可用的这样一种事实，即根据有关致癌可能的安全性判断来提供足够的信息。

## 基因工程动物模型

基因工程动物的应用有可能取代某些长期的传统（2 年）啮齿类动物的研究。小鼠模型已用作癌症研究中的机制模型。有可能替代 2 年啮齿动物的致癌性生物测定的动物，可以是 p53 knockout 小鼠或 Tg, AC 小鼠<sup>[16]</sup>。

这些小鼠模型的应用基于观察到人类肿瘤通常在肿瘤

抑制基因和(或)致癌基因之间发生的分子改变。在正常组织中,肿瘤抑制基因(如 p53 和 Rb)作为细胞增殖的负调节剂。基因突变或缺失引起的失活或肿瘤抑制活性缺失会导致临界调节功能丧失并可能导致细胞增殖失控。

肿瘤抑制基因的缺失是人类癌症中最常见的基因改变,一个或两个 p53 等位基因缺失会促进瘤的形成,或缩短肿瘤发展的潜伏期。当 p53 缺失小鼠暴露在基因毒性剂中时,某些组织会快速地发展成肿瘤,p53 小鼠较“正常”小鼠更敏感,因此可用来作为模型。

Tg.AC 小鼠用作皮肤癌模型,当 Tg.AC 小鼠暴露在伏波醇酯肿瘤促进剂和其他非基因毒性剂时,会很快地被诱导。当以上实验完全被证实时,包括含 p53 缺失小鼠和 Tg.AC 鼠的试验组将提供一种模型,该模型可以判断基

因或非基因致癌性,并将致癌性研究缩短至 6 个月。

## 总结

IPEC-美国推荐的试验见表 1<sup>[12]</sup>，“R”代表必做的试验，“C”代表可根据先前的试验结果和预计的用途而选做的试验。IPEC-欧洲<sup>[18]</sup>建议的试验见表 2,与表 1 略有不同。决定“C”试验是否需要,应由这一领域的专家来判定。两种 IPEC 试验模型都是根据其他研究者在开发各种赋形剂时得到的化学的、药理的和物理的资料而获得的。从化学家、药理学家和其他学科研究者获得的资料来评价一个新化合物的危险性是非常有价值的。

表 2 IPEC-欧洲安全性试验指南摘要

试验	人的暴露途径						
	口服	黏膜	透皮	皮肤/局部	非肠道	肺吸入/鼻腔	眼用
第 0 步							
ADME	R	R	R	R	R	R	R
第 1 步 (基本试验)							
急性口服毒性 (预期途径)	R	R	R	R	R	R	R
眼刺激	—	R	R	R	R	R	R
皮肤刺激	—	R	R	R	R	R	R
皮肤过敏	R	R	R	R	R	R	R
急性注射毒性	—	—	—	—	R	—	—
应用部位评价	—	R	R	R	R	—	—
肺部过敏	—	—	—	—	—	C	—
光毒性/变态反应	—	—	C	C	—	—	—
Ames 试验	R	R	R	R	R	R	R
染色体损伤	R	R	R	R	R	R	R
微核	R	R	R	R	R	R	R
4 周毒性	R	R	R	R	R	R	R
2 种动物预期途径							
第 2 步							
90 天毒性 (最适合动物)	R	R	R	R	R	R	R
致畸 (鼠、兔)	R	R	R	R	R	R	R
遗传毒性分析	R	R	R	R	R	R	R
第 3 步							
6~9 个月慢性毒性 (啮齿、非啮齿)	C	C	C	C	C	C	C
细胞分裂 I	R	R	R	R	R	R	R
细胞分裂 III	C	C	C	C	C	C	C
光致癌性	—	—	C	C	—	—	—
致癌性	C	C	C	C	C	C	C

注: R 表示必做的; C 表示可选做的。

(摘自 IPEC 欧洲安全委员会,新赋形剂安全评价指南,欧洲药典综述,1997 年 11 月)。

按照 IPEC-美国方法在人体上的试验,不论是临床试验的一部分还是独立的试验,都应有动物试验的数据为依据。对基础数据的评价,可以支持待批赋形剂在有效期(长时期)内使用一次或两次。假如进行了表 1 第二部分所

列的试验,对这些数据的评价可支持该新赋形剂在各种有限量的重复摄入的产品中使用。假如吸收、分布、代谢、排泄/药物(代谢)动力学(ADME/PK)研究显示某赋形剂没有被吸收,可得出结论:该赋形剂可连续使用 30~90

天。需长期使用的赋形剂应进行表 1 第三部分所列的试验。必须对赋形剂进行一代生殖研究以确认其引起的配对行为：作用/干扰、生长/成熟、繁殖力、胚胎损失的预植入/植入。如果试验数据表明对生殖和发育有毒性，那么就需继续进行表 1 第 3 步的研究<sup>[3,19,20]</sup>。

指南中没有提供具体的方法学，试验操作应由专家、管理机构认可，每个试验都应设计成说明一个问题，其数据应得到相应的评价。当评价动物资料时，要确保毒性发现对某些个别试验品种来说并不是唯一的，并且与人的经验是无关的。

最后，评价一个物质的安全性与其将用于的药物制剂是一样重要的。赋形剂制造者必须遵从 GMP。从制造开始到客户的使用都必须有完整的审查。IPEC-美国设立了第三方审查程序，见以上指南所列举。这个程序由国际药用赋形剂审查公司（IPEA）指导，是唯一的仅仅关注药用赋形剂质量的程序，该程序被设计用于预防赋形剂可能存在的问题，如 1996 年海地发生的 80 个儿童因咳嗽药甘油中含有大量的乙二醇而死亡的事件。

总之，在制剂中，赋形剂的安全性需要符合如下要求：

- (1) 要使用的赋形剂必须是经过安全性试验的赋形剂；
- (2) 试验过程足以评价安全性，并被有关的管理机构所认可；
- (3) 赋形剂是合格的；
- (4) 使用的药物制剂是合格的；
- (5) 配方中赋形剂的用量系由合适的试验数据而来。

### 参考文献

1. De Jong, H. J. The Safety of Pharmaceutical Excipients. *Therapie* 1999, 54 (11).
2. The United States Pharmacopoeia 24/National Formulary 19; 2000.
3. Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food. World Health Organization. *Environ. Health Criter.* 1987, 70.
4. Good Manufacturing Practices Guide for Bulk Pharmaceutical Excipients; The International Pharmaceutical Excipients Council; Arlington, VA, 2000.
5. The International Pharmaceutical Excipients Council Guideline for Distribution of Bulk Pharmaceutical Excipients; 2000.
6. Guideline for Residual Solvents, International Conference on Harmonization; 1999.
7. IPEC-Americas Significant Change Guide for Bulk Pharmaceutical Excipients, The International Pharmaceutical Excipients Council of the Americas, 2000.
8. Guidance on the Required Content and Format of Certificates of Analysis, The International Pharmaceutical Excipients Council of the Americas, 2000.
9. Blecher, L. Excipients; The Important Components. *Pharm. Process* 1993.
10. Cooper, J. Inert Components of Pharmaceutical Preparations. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1979, 5, 293.
11. Smith, J. M.; Dodd, T. R. P. Adverse Drug Reactions. *Acute Poisoning Review* 1982, 1, 93.
12. Steinberg, M.; Borzelleca, J. F.; Enters, E. K.; Kinoshita, F. K.; Loper, A.; Mitchell, D. B.; Tamulinas, C. B.; Weiner, M. L. A New Approach to the Safety Assessment of Pharmaceutical Excipients. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1996, 24 (2), 149.
13. Steinberg, M. ICH Guidelines and Safety: An Update. *Pharm. Tech.* 1999.
14. E. U. Directive 75/318 European Economic Community, 1995.
15. Guiding Principles in the Use of Animals in Toxicology Society of Toxicology, 1996.
16. Life Sciences News Letter; ITT Research Institute; Chicago IL, 2000.
17. Moreton, C. R. New Excipients; From Idea to Market. *Eur. Pharma. Rev.* 1997, 2 (3).
18. The IPEC Europe Safety Committee. The Proposed Guidelines for the Safety of New Excipients. *Eur. Pharm. Rev.* 1997, November.
19. Bass, R.; Ulbrich, B.; Hildebrandt, A. G.; Weissinger, J.; Doi, O.; Baeder, C.; Fumero, S.; Harada, Y.; Lehmann, H.; Manson, J.; Neubert, D.; Omori, Y.; Palmer, A.; Sullivan, F.; Takayama, S.; Tanimura, T. Draft Guideline on Detection of Toxicity of Reproduction for Medicinal Products. *Adv. Drug React. Toxicol. Rev.* 1991, 9 (J), 127.
20. Toxicological Principles for the Safety Assessment of Direct Food Additives and Color Additives Used in Foods, Redbook II; Draft, U. S. Food and Drug Administration (USFDA), Bureau of Foods; 1993.
21. Weiner, M. L.; Kotloskie, L. A. Excipient Toxicity and Safety; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1999.

(张毅兰 译)

# F

## 赋形剂：在注射剂中的作用

Sandeep Nema

Pharmacia Corporation, Skokie, Illinois, U. S. A.

Ron J. Brendel

Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouri, U. S. A.

Richard J. Washkuhn

Lexington, Kentucky, U. S. A.

## 引言

所谓药用赋形剂或添加剂，是指为各种目的加入到最终药品中的化合物。通常，相对于药品中占百分比很小的活性药物分子，赋形剂是药品中的主要成分。赋形剂被认为是无活性的或惰性的成分，以别于活性的药物成分。但是，不像一些科学家认为的那样，在许多情况下，赋形剂不是惰性的。由于安全性问题一些国家已限制用于注射剂处方中的赋形剂的量和种类。例如，日本禁止使用氨基汞氯化物或硫柳汞（一种消毒液原料），即使这些赋形剂还在美国的几个药品中使用。

1997年版欧洲药典（EP）和1999年版英国药典（BP）定义“注射制剂是注射、滴注或植入到人体或动物体的灭菌制剂”<sup>[1,2]</sup>。本章仅讨论注射或滴注入人体的灭菌制剂。注射产品需要特别的处方研究。制备的产品必须无菌，无热源，若为溶液剂，应无粒子。不能单纯为了着色而在注射剂中添加着色剂。制剂应等渗，并根据给药途径不能使用一些赋形剂。对特定的药物，因注射的药物绕过了自然防御屏障，相对于非注射途径，其副反应的风险可能会高，其药理作用也许难以逆转。由于无菌的要求，赋形剂应能经受住最终灭菌或无菌处理。这些因素限制了能用于处方的赋形剂的选择。

通常，对研制人员而言，将已经得到食品药品监督管理局（FDA）安全的认可或已在上市产品中使用的赋形剂应用到他们的新产品中应该是安全的。但也不能确保新产品的安全性，因为赋形剂与其他附加剂结合，使用及与新的药物分子结合时会产生不可预见的潜在或协同毒性。管理部门倾向于审批已批准过的用于注射剂的赋形剂，常常只需提供较少的安全性资料。而新赋形剂用在处方中需要额外的研究，因而增加了产品的开发费用和研究的时间。

在日本，如果药品中的赋形剂事先未在本国使用过，那么其质量和安全性必须经中央药事委员会的药用辅料委员小组与药品申请的同时评估<sup>[3]</sup>。优先权指该赋形剂已经

在日本的药品中使用，在研究的新产品中可批准用于同样的给药途径，批准的剂量等同或者高于其他正在试验的赋形剂。

本章是对在美国、欧洲和日本上市的可注射产品中的赋形剂的全面综述。从文献回顾发现，发表的仅不多的文章专门叙述注射用药品的赋形剂的选择<sup>[4-9]</sup>。对其他非注射的灭菌制剂的赋形剂如灌注液、眼或耳的滴剂和软膏将不包括在本章中。

本章编写的资料摘自一些参考文献<sup>[4-7,10-14]</sup>。将上市的可注射用的制剂配方资料输入电子表格，本章中的表格由该电子表格精简而来。每表均据赋形剂在处方中的主要作用分类，例如，柠檬酸盐作为缓冲剂而不是螯合剂，抗坏血酸盐作抗氧剂分类，当然它们都可作为缓冲剂。该分类系统精炼而易读，赋形剂的浓度用质量体积百分比（w/v）或体积分数（vol%）表示。如果产品按冻干或粉末列出，百分比根据常用的复溶的体积而得。这些表格集中列出赋形剂浓度范围和包含赋形剂的产品，特别是那些包括了使用特别低浓度至特别高的浓度赋形剂的产品。

## 赋形剂的种类

### 1. 溶剂和助溶剂

表1列出了用于注射剂的溶剂和助溶剂。注射用水是最常用的溶剂，也可与助溶剂合用或用助溶液取代以改善药物的溶解度或稳定性<sup>[15,16]</sup>。介电常数和溶解度参数是混合溶剂中最常用极性指标<sup>[17,18]</sup>。超过50%的注射用共溶剂系统中乙醇和丙二醇常单用或与其他溶剂合用。令人不解的是丙二醇有较高的肌毒性和溶血性<sup>[19-22]</sup>，但仍还是比聚乙二醇（PEG）更常用。助溶剂的溶血大小依次如下<sup>[19]</sup>：

二甲基乙酰胺 < PGE 400 < 乙醇 < 丙二醇 < 二甲醚

漂白时可能残留的过氧化物或PEG产生的过氧化物会导致助溶系统中药物的降解。在配方中应使用未漂白的且无过氧化物的PEG。



表1 溶剂和助溶剂

赋形剂	使用频率	浓度范围	实例
杏仁油	1	ND	Poison Ivy Extract (Parke Davis)
苯甲酸苄酯	3	20%~44.7% w/v	Delestrogen® 40mg/mL (Bristol Myers) 44.7% w/v
蓖麻油	1	ND	Delestrogen® 20mg/mL (Bristol Myers) 44.7% w/v
棉籽油	2	73.6%~87.4% w/v	Depo-Testadiol (Upjohn) 87.4% w/v
N,N-二甲基乙酰胺	2	6%~33% w/v	Busulfex® (Orphan Medical) 33%
乙醇	26	0.6%~100%	Prograf (Fujisawa) 80vol%, Alprostadil (Bedford Lab) 100%
丙三醇	12	1.6%~70% w/v	Multitest CMT® (Pasteur Merieux) 70% w/v
花生油	1	ND	Bal in Oil® (Becton Dickinson)
聚乙二醇			
PEG	5	0.15%~50%	Secobarbital sodium (Wyeth-Ayerst) 50%
PEG 300	3	50%~65%	VePesid® (Bristol Myers) 65% w/v
PEG 400	3	18%~67vol%	Busulfex® (Orphan Medical) 67%
PEG 600	1	5% w/v	Persantine® (Dupont-Merck)
PEG 3350	5	0.3%~3%	Depo-Medrol® (Upjohn) 2.95% w/v
罂粟子油	1	ND	Ethiodol® (Savage)
丙二醇	29	0.2%~80%	Ativan (Wyeth-Ayerst) 80%
红花油	2	5%~10%	Liposyn II® (Abbott) 10%
芝麻油	6	100%	Solganal® Inj. (Schering)
大豆油	4	5%~20% w/v	Intralipid® (Clintec) 20%
植物油	2	ND	Virilon IM® Inj. (Star Pharmaceuticals)

注：ND表示无资料提供。

红花油和大豆油等可用于所有胃肠外使用的营养制剂中，它们可作为脂肪源和脂溶性维生素载体。美国药典（USP）对注射用油的要求如下：

### 1.1 不挥发性油（来自植物）

- 皂化值（185~200）
- 碘价（79~128）[日本药典（JP）推荐值在79~137]

- 未皂化物质的测试
- 测试游离脂肪酸
- 在10℃固体石蜡测试
- 酸值不大于0.56（仅日本药典）

### 1.2 合成的单和双甘油脂肪酸酯（在冷至10℃时仍为液体）

- 碘价（<140）
- 在10℃固体石蜡测试

油类还用来溶解低水溶性药物并能长时间缓慢释放药物。应避免在注射剂中因不挥发性油的变质导致游离脂肪

酸的酸败和游离脂肪酸的产生，不挥发油或脂肪酸酯类中不能含机体无法代谢的矿物油或石蜡。

## 2. 聚合物和表面活性剂

表2列入范围较广的赋形剂，它在制剂中的作用如下：

（1）增稠剂或助悬剂：羧甲基纤维素，羧甲基纤维素钠，阿拉伯胶，聚乙烯吡咯烷酮，水解明胶和山梨醇。

（2）增溶剂、湿润剂或乳化剂：聚氧乙烯蓖麻油 EL，去氧胆酸钠，吐温 20 或 80，PEG 40 蓖麻油，PEG 60 蓖麻油，十二烷基硫酸钠，卵磷脂或蛋黄卵磷脂。

（3）凝胶成形剂：如单硬脂酸铝加到不挥发油中形成黏稠的或呈凝胶状混悬介质。

吐温 80 是最常用的增溶剂、湿润剂和乳化剂。必须要注意的是残留在吐温中的过氧化物，为此必须隔绝与空气的接触以防进一步的氧化<sup>[23]</sup>。吐温 80 是聚氧乙烯山梨醇单油酸不饱和脂肪酸酯类，吐温 20 是聚氧乙烯山梨醇单月桂酸饱和脂肪酸酯。用吐温 80 和吐温 20 药物制剂的稳定性是不同的。如 Neupogen®，当用高浓度的吐温 20 时的氧化作用比用同样浓度的吐温 80 要小<sup>[24]</sup>。

表 2 增溶剂、湿润剂、助悬剂、乳化剂和增稠剂

赋形剂	使用频率	浓度范围	实 例
金合欢	2	7%	Tuberculin Old Test® (Lederle) 7%
单硬脂酸铝	1	2%	Solganal Inj.® (Schering) 2%
羧甲基纤维素	4	0.50%~0.55%	Bicillin® (Wyeth-Ayerst) 0.55%
羧甲基纤维素钠	19	0.15%~3.0%	Nutropin Depot® (Genentech) 3%
聚氧乙烯蓖麻油 EL <sup>1)</sup>	3	50%~65% w/v	Sandimmune® (Sandoz) 65% w/v
去氧胆酸钠	1	0.4% w/v	Fungizone® (Bristol Myers) 0.41% w/v
蛋黄卵磷脂	3	1.2%	Intralipid® (Clintec) 1.2%
水解明胶	1	16% w/v	Cortone® (Merck) 16% w/v
卵磷脂	8	0.4%~1.2% w/v	Diprivan® (Zeneca) 1.2% w/v
普朗尼克 F-68	1	—	Fluosol® (Alpha Therapeutics)
聚氧乙烯脂肪酸	2	7%~12% w/v	AquaMephyton® (Merck) 7% w/v Aquasol A parenteral® (Astra) 12%
吐温 80	48	0.004%~100%	Taxotere® (Aventis) 100%
吐温 20	9	0.01%~0.4%	Calcijex®w (Abbott) 0.4% w/v
PEG 40 蓖麻油 <sup>2)</sup>	1	11.5 vol%	Monistat®w (Janssen) 11.5 vol%
PEG 60 蓖麻油 <sup>3)</sup>	1	20% w/v	Prograf® (Fujisawa) 20% w/v
聚乙烯吡咯烷酮 (pvp)	7	0.5%~0.6% w/v	Bicillin® (Wyeth-Ayerst) 0.6% w/v
十二烷基硫酸钠	1	0.018% w/v	Proleukin® (Cetus) 0.018% w/v
山梨醇	3	25%~50%	Aristrospan® (Fujisawa) 50vol%

1) 又称 Etocas35, 聚氧乙烯蓖麻油, 聚氧乙烯 35 蓖麻油。

2) 又称聚氧乙烯 40 蓖麻油, 蓖麻油 POE-40, Croduret40, 聚氧乙烯 40 蓖麻油, Protachem CA-40。

3) 又称 Cremophor RH60, 氢化蓖麻油 POE-60, Protachem CAH-40。

### 3. 螯合剂

只有少数螯合剂可用于注射剂(表 3)。螯合剂可络合重金属而增加抗氧化剂或防腐剂的作用。枸橼酸、酒石酸和一些氨基酸也可作为螯合剂。对 EDTA(钙盐)已在日本批准作为可注射品使用,尚有些不理解。目前在日本,含有 EDTA 的二钠钙的一些药品已上市,这种药用赋形剂已

作为法定赋形剂(表 11)。与 EDTA 四钠盐相比,EDTA 钙盐的优点是不会释放钠,不会在血液中螯合大量的钙。

络合剂不能用于金属蛋白处方中,因为蛋白质的亚基由金属离子来维持<sup>[25]</sup>。EDTA 在很少情况下能因 EDTA 和蛋白质的金属络合物结合而增加氧化速率,从而定位生成游离基<sup>[26]</sup>。

表 3 螯合剂

赋形剂	使用频率	浓度范围	实例
乙二胺四乙酸钙二钠盐 (EDTA) <sup>1)</sup>	9	0.01%~0.1%	Wydase® (Wyeth-Ayerst) 0.1% w/v
乙二胺四乙酸二钠盐 (EDTA)	38	0.01%~0.11%	Calcijex® (Abbott) 0.11% w/v
己二胺四乙酸 (CDTA)	1	0.20%	Folvite® (Lederle) 0.20%
二乙三胺乙酸 (DTPA) <sup>2)</sup>	1	0.04%	Magnevist® (Berlex) 0.04%

1) EDTA = 乙二胺四乙酸。

2) DTPA = 二乙三胺乙酸, 二乙撑三胺五乙酸。

### 4. 抗氧化剂

抗氧化剂用于防止最终产品中的活性成分和赋形剂的氧化。主要有三种类型:

(1) 真正的抗氧化剂: 与游离基反应, 起链终止的作用, 如丁基化羟甲基苯。

(2) 还原剂: 它们较药物有更低的氧化还原的电势,

较药物先氧化破坏, 如抗坏血酸, 在产品的有效期里被消耗。

(3) 抗氧化增效剂: 能提高抗氧化剂的作用, 如 EDTA。

表 4 概述了各种抗氧化剂, 及其使用频率、浓度范围以及用它们的实例。硫化物、亚硫化物和偏亚硫酸盐是注射剂中使用的主要抗氧化剂, 尽管有些配伍禁忌和毒性的报告<sup>[27,28]</sup>。叔丁基对羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯、 $\alpha$ -生育

酚和没食子酸丙酯因较低的水溶性主要用于半/非水介质的抗氧化剂<sup>[29]</sup>。抗坏血酸盐/抗坏血酸钠盐在同样的处方中可作为抗氧化剂、缓冲剂及螯合剂。一些氨基酸如半胱氨酸也是有效抗氧化剂。

药品产权委员会 (CPMP) 指南要求对产品中使用的

抗氧化剂应有充分的说明和判断<sup>[30]</sup>。要说明在处方中的抗氧化剂是必须使用的。对此, 首先可在产品的上部空间充惰性气体 (氮气或氩) 来防止氧化。如果一定要用抗氧化剂, 其使用浓度应从有效性和安全性来确定。硫化物和偏亚硫酸盐等抗氧化剂最好不用。

表 4 抗氧化剂和还原剂

赋形剂	使用频率	浓度范围	实例
丙酮合亚硫酸氢钠	4	0.2%~0.4% w/v	Novocaine® (Sanofi-Winthrop) 0.4% w/v
抗坏血酸 (钠/酸)	8	0.1%~4.8% w/v	Vibramycin® (Pfizer) 4.8% w/v
亚硫酸氢钠	31	0.02%~0.66% w/v	Amikin® (Bristol Myers) 0.66% w/v
丁基羟基茴香醚 (BHA)	3	0.0028%~0.03% w/v	Aquasol A® (Astra) 0.03% w/v
丁基羟基甲苯 (BHT)	3	0.00116%~0.03% w/v	Aquasol A® (Astra) 0.03% w/v
半胱氨酸/ (盐酸半胱氨酸)	3	0.07%~1.3% w/v	Acthrel® (Ferring) 1.3% w/v
连二亚硫酸钠 (亚硫酸钠)	1	0.10%	Numorphan® (Endo Lab) 0.10%
2, 5-二羟基苯甲酸	1	0.02% w/v	OctreoScan® (Mallinckrodt) 0.02% w/v
2, 5-二羟基苯甲酸氨基乙醇	1	2%	M. V. I. 12® (Astra) 2%
谷氨酸钠	2	0.1% w/v	Varivax® (Merck) 0.1% w/v
甲醛次硫酸氢钠	9	0.02%~0.5% w/v	Terramycin solution (Pfizer) 0.5% w/v
偏亚硫酸氢钾	1	0.10%	Vasoxyl® (Glaxo-Wellcome) 0.10%
偏亚硫酸氢钠	32	0.02%~1% w/v	Intropin® (DuPont) 1% w/v
硫甘油	6	0.1%~1%	Terramycin solution (Pfizer) 1%
没食子酸丙酯	2	0.02%	Navane® (Pfizer) 0.02%
硫化钠	7	0.05%~0.2% w/v	Enlon® (Ohmeda) 0.2% w/v
$\alpha$ -生育酚	1	0.005% w/v	AmBisome® (Fujisawa) 0.005%
巯基乙醇酸钠	1	0.66% w/v	Sus-Phrine® (Forest) 0.66% w/v

一些抗氧化剂有抗菌作用, 如没食子酸丙酯和羧丁基对羟基茴香醚有一定抗菌作用。已证明二丁基羟基甲苯有一些抗病毒活性。抗氧化剂和药物、包装系统以及机体的相容性应仔细地研究。如维生素 E 会被塑料吸附; 抗坏血酸盐与碱金属、重金属和诸如亚苯基、亚硝酸钠等氧化材料不相容; 没食子酸丙酯因与金属离子如钠、钾和铁产生络合而不相容。

## 5. 防腐剂

苯甲醇是注射剂配方中最常用的抗菌防腐剂 (表 5),

这个结论与其他的调查相一致<sup>[6,31]</sup>。对羟基苯甲酸酯是第二种最常用的防腐剂。奇怪的是, 噻汞撒也很常用, 特别在疫苗中, 尽管有个别人对汞敏感。有些容易挥发的防腐剂 (苯甲醇以及苯酚), 不能用于冻干制剂中。氯甲酚是注射剂较好的防腐剂, 但我们未发现有含氯甲酚的上市产品。英国药品处方集和马丁代尔大药典中氯甲酚作为防腐剂浓度为 0.1%, 可用于多剂量的注射剂, 但未提供注射剂产品的例子<sup>[32,33]</sup>。

表 5 抗菌防腐剂

赋形剂	使用频率	浓度范围	实例
氯化苄胺	1	0.02% w/v	Celestone Soluspan® (Schering) 0.02% w/v
苯素氯铵	4	0.01%	Benadryl® (Parke-Davis) 0.01% w/v
苯甲醇	85	0.75%~10%	Progesterone (United Res) 10%
氯甲酚	18	0.25%~0.5%	Codine phosphate (Wyeth-Ayerst) 0.5%
m-甲酚	5	0.1%~0.35%	Humalog® (Lilly) 0.35%
十四烷基- $\gamma$ -甲基吡啶盐酸盐	2	0.0195%~0.169% w/v	Depo-Provera® (Pharmacia-Upjohn) 0.169% w/v
甲基对羟基苯甲酸酯	52	0.05%~0.18%	Inapsine® (Janssen) 0.18% w/v
丙基对羟基苯甲酸酯	44	0.01%~0.1%	Xylocaine w / Epinephrine (Astra) 0.1% w/v
苯酚	50	0.2%~0.5%	Calcimar® (Rhone-Poulanc) 0.5% w/v
2-苯氧基乙醇	4	0.50%	Havrix® (SmithKline Beecham) 0.50% w/v
硝酸苯汞	3	0.001%	Antivenin® (Wyeth-Ayerst) 0.001%
噻汞撒	48	0.003%~0.012%	Atgam® (Pharmacia-Upjohn) 0.01%

## F

抗菌防腐剂可用于多次注射用的注射剂，当反复抽吸时微生物意外进入容器后而起抑制微生物生长作用。在美国不鼓励在一次性注射剂中使用，欧洲药典（EP）和英国药典（BP）则允许在无菌操作的水制剂中可含适当的防腐剂。应该强调的是，防腐剂不能作为 GMP（药品生产管理规范）不足的替代物。英国药典和欧洲药典禁止抗菌剂在单次剂量大于 15mL 的注射剂，或经脑脊髓注射或进入脑脊液（CSF）的制剂中使用。减少抗菌防腐剂的使用的主要原因是其具有毒性。比如，许多人对汞防腐剂过敏。苯甲醇不能用于 2 岁以下的儿童。美国药典（USP）限制了处方中使用防腐剂的浓度以免毒性反应和过敏反应（表 6）。世界卫生组织（WHO）允许的每天总的山梨酸盐（如酸、钙、钾和钠盐）的摄取量：不超过 25mg/kg 体重。防腐剂的效果应在产品开发期间进行抗菌防腐效果试验（PET）<sup>[34~36]</sup>。加防腐剂的水注射剂药品在容器打开之后能使用的最多天数为 28 天<sup>[37]</sup>。显然，必须在最终产品的最后包装进行 PET 测试才能确定这个 28 天。无防腐措施的产品最好在开封后、复溶后或稀释后立即使用。

表 6 防腐剂和抗菌剂允许的最大允许量

赋形剂	美国药典（USP）最大限度/%
汞化合物	0.01
阴离子表面活性剂	0.01
氯代丁醇	0.50
甲酚	0.50
苯酚	0.50
二氧化硫或等量硫化物，亚硫酸氢盐，或偏亚硫酸氢钾或钠	0.20

## 6. 缓冲剂

缓冲剂加至处方中用于调整酸碱度以获得合适溶解度

和稳定性，注射剂的 pH 应接近生理状态。缓冲浓度（离子强度）和缓冲剂种类的选择是关键。例如，配方中使用 5~15mmol/L 枸橼酸缓冲剂，当缓冲液浓度大于 50mmol/L 时，皮下注射会剧痛而且由于其和血液中的钙起整合作用而产生毒性。

缓冲剂在它的  $pK_a$  附近具有最大缓冲能力，对一个在制备期间有剧烈温度波动的产品（如灭菌或冻干），选择小的  $\Delta pK_a/^\circ\text{C}$  的缓冲剂至关重要。如 TRIS 缓冲液剂的  $\Delta pK_a/^\circ\text{C}$  大（ $-0.028/^\circ\text{C}$ ），缓冲剂 25℃ 时的 pH 为 7.1，至 100℃ 时为 5.0。为此将显著地改变药品的稳定性或溶解性。冻干产品的最好缓冲剂在样品冷却时 pH 变化最小，不析出结晶，并且，保持在无定形的状态下保护药物。例如，用羟乙酸盐缓冲剂代替琥珀酸盐改善了冻干  $\gamma$ -干扰素的稳定性。含有琥珀酸盐缓冲剂（pH 5）的甘露醇冻干时的 pH 为 5，琥珀酸盐单钠会结晶，降低了 pH，导致  $\gamma$ -干扰素的折叠，而羟乙酸盐缓冲剂则未见 pH 变化。

表 7 列出了常用于调节配方 pH 的缓冲剂和化学品及产品的 pH 范围。磷酸盐、柠檬酸盐和乙酸盐是注射剂中最常用的缓冲剂。加入乙醇胺和二乙醇胺以调整 pH 和形成相应的盐。氢溴酸、硫酸、苯磺酸以及甲磺酸加入药物中形成药物的溴盐（东莨菪碱氢溴酸盐、山莨菪碱氢溴酸盐）、硫酸盐（妥布霉素、脱普霉素硫酸盐）、苯磺酸盐（阿曲库铵，苯磺阿曲库铵）以及甲磺酸盐（DHE 45 注射剂、双氢麦角基甲磺酸盐）。葡萄糖酸- $\delta$ -内酯用来调整奎尼定葡萄糖酸盐的 pH。5% 的安息香酸盐缓冲剂用于安定注射剂。枸橼酸盐是一种常用的缓冲剂，具有双重作用，还可作为整合剂。氨基酸、赖氨酸和氨基乙酸，有缓冲和稳定蛋白质和多肽处方的作用。这些氨基酸作为冻干添加剂，可防止蛋白质在冷却时失活。乳酸盐和酒石酸盐偶尔作为缓冲系统。乙酸盐在低 pH 时是较好的缓冲剂，但它们一般不用于冻干产品，因为乙酸盐会挥发升华。

表 7 缓冲剂和 pH 调节剂

赋形剂	pH 范围	实 例
乙酸盐		
乙酸钠	3.7~4.3	Syntocinon® (Novartis)
乙酸	3.7~4.3	Syntocinon® (Novartis)
冰醋酸	3.5~5.5	Brevibloc® (Ohmeda)
氨	6.8~7.8	Bumex Injection® (Roche)
硫酸铵	—	Innovar® (Astra)
氢氧化铵	—	Triostat® (Jones Medical)
精氨酸	7.0~7.4	Retavase® (Boehringer)
天冬氨酸	5.7~6.4	Pepcid® (Merck)
苯磺酸	3.25~3.65	Nimbex® (Glaxo Wellcome)
苯甲酸/苯甲酸钠	6.2~6.9	Valium® (Roche)
碳酸盐	5.5~11.0	Cenolate® (Abbott)
硼酸/硼酸钠	—	Comvax® (Merck)
碳酸盐，碳酸钠	5.0~11.0	Hyperab® (Bayer)

续表

赋形剂	pH 范围	实 例
枸橼酸盐		
枸橼酸	3.0~5.5	DTIC-Dome® (Bayer)
枸橼酸钠	3.5~6.5	Amikin® (Bristol Myers)
枸橼酸二钠	—	Cerezyme® (Genzyme)
枸橼酸三钠	—	Cerezyme® (Genzyme)
二乙醇胺	9.5~10.5	Bactim IV® (Roche)
葡萄糖酸- $\delta$ -内酯	5.5~7.0	Quinidine Gluconate (Lilly)
氨基乙酸/氨基乙酸 HCL	6.4~7.2	Hep-B Gammagee® (Merck)
组氨酸/组氨酸 HCL	6.5	Doxil® (Sequus)
盐酸	6.0~7.6	Amicar® (Immunex)
氢溴酸	3.5~6.5	Scopolamine (UDL)
乳酸钠/乳酸	2.7~5.7	Innovar® (Janssen)
赖氨酸 (L)	—	Eminase® (Roberts)
马来酸	3.0~5.0	Librium® (Roche)
甲葡胺 (麦格鲁明)	6.5~8.0	Magnevist® (Berlex)
甲磺酸	3.2~4.0	DHE-45® (Novartis)
单乙醇胺	8.0~9.0	Terramycin (Pfizer)
磷酸盐		
磷酸	6.5~8.5	Saizen® (Serono Labs)
磷酸二氢钾	6.7~7.3	Zantac® (Glaxo-Wellcome)
磷酸二氢钠 <sup>1)</sup>	6.0~8.0	Pregnyl® (Organon)
磷酸氢钠 <sup>2)</sup>	6.7~7.8	Zantac® (Glaxo-Wellcome)
磷酸钠	—	Synthroid® (Knoll)
氢氧化钠	宽范围	Optiray® (Mallinckrodt)
丁二酸钠/二钠	5.0~6.0	AmBisome® (Fujisawa)
硫酸	3.0~6.5	Nebcin® (Lilly)
酒石酸/钠	2.7~6.2	Methergine® (Novartis)
氨丁三醇	6.0~7.5	Optiray® (Mallinckrodt)

1) 二价磷酸钠，二价磷酸氢钠，或者正磷酸二氢钠。

2) 磷酸钠，磷酸氢二钠。

## 7. 冻干成形剂，保护剂和渗透压调节剂

表 8 是用于改变渗透压和用作冻干成形或者冻干/低温保护剂的赋形剂。右旋糖和氯化钠在无数的配方中用来调节渗透压。一些氨基酸，如氨基乙酸、丙氨酸、组氨酸、咪唑、精氨酸、天冬酰胺和天冬氨酸被用作冻干成形剂，也可作为稳定剂和（或）缓冲剂。单糖（右旋糖、葡萄糖、麦芽糖、乳糖）、二糖（蔗糖、海藻糖）、多元醇（纤维醇、甘露醇、山梨糖醇）、聚乙二醇（PEG 3350）、聚维酮（聚乙烯吡咯烷酮、PVP），和蛋白质（白蛋白、明胶）是常见的冻干添加剂。羟乙基淀粉和喷他淀粉，目前在市场上用作血浆扩充剂，例如，羟乙基淀粉和 Pentaspan（一种淀粉溶液），也已在蛋白质冻干的过程作为保护剂被评价过。

表 8 成形剂、保护剂及渗透调节剂

赋形剂	实 例
丙氨酸	Thrombate III® (Bayer)
白蛋白	Bioclote® (Arco)
白蛋白 (人)	Botox® (Allergan)
氨基酸	Havrix® (Smith Kline Beecham)
精氨酸 (L)	Activase® (Genentech)
天冬酰胺	Tice BCG® (Organon)
天冬氨酸 (L)	Pepcid® (Merck)
氯化钙	Phenergan® (Wyeth-Ayerst)
$\alpha$ -环糊精	Edex® (Schwartz)
$\gamma$ -环糊精	Cardiotec® (Squibb)
葡聚糖-40	Etopophos® (Bristol Myers)
右旋糖	Betaseron® (Berlex)
明胶 (交联)	Kabikine® (Pharmacia-Upjohn)
明胶 (水解)	Acthar® (Rhône-Poulanc Rorer)

续表

赋形剂	实 例
乳酸-乙醇酸共聚物	Lupron Depot® (TAP)
葡萄糖	Iveegam® (Immuno-US)
甘油	Tice BCG® (Organon)
甘氨酸	Atgam® (Pharmacia-Upjohn)
组氨酸	Antihemophilic Factor, human (Am. Red Cross)
咪唑	Helixate® (Armour)
肌醇	OctreoScan® (Mallinckrodt)
乳糖	Caverject® (Pharmacia-Upjohn)
氯化镁	Terramycin Solution (Pfizer)
硫酸镁	Tice BCG® (Organon)
麦芽糖	Gamimune N® (Bayer)
甘露醇	Elspar® (Merck)
PEG 3350	Bioclate® (Arco)
聚乳酸	Lupron Depot® (TAP)
吐温 80	Helixate® (Armour)
氯化钾	Varivax® (Merck)
PVP	Alkeran® (Glaxo-Wellcome)
氯化钠	WinRho SD® (Univax)
胆甾醇硫酸钠	Amphotec® (Sequus)
琥珀酸钠	Actimmune® (Genentech)
硫酸钠	Depo-Provera® (Pharmacia-Upjohn)
山梨糖	Panhematin® (Abbott)
蔗糖	Prolastin® (Bayer)
海藻糖 ( $\alpha$ , $\beta$ )	Herceptin® (Genentech)

PVP 在注射剂中作为增溶剂、保护剂以及冻干成形剂。无热原的低相对分子质量 ( $K$  值少于 18) 的 PVP, 因能较快地经肾清除而可在注射剂中使用。PVP 不仅能增溶一些药物如抗结核药利福平, 还能减少土霉素注射剂的局部毒性。

在冻干的状态下, 如果稳定剂和蛋白质在冰冻时不发生相分离或稳定剂不析出结晶, 许多蛋白质能被稳定, 如 Neupogen® (GCSF), 原有处方中的甘露醇用山梨醇替换来避免在意外结冰的情况下液体制剂的活性降低<sup>[24]</sup>。溶液冻结时甘露醇结晶, 而山梨醇仍保持无定形的状态, 保护 GCSF。同样药物溶液在冻结时保持分散在稳定剂中也有用。如头孢西丁, 一种头孢菌素, 与蔗糖冰冻干燥比海藻糖更加稳定, 因为海藻糖的玻璃转化温度和结构松弛时间远远超过蔗糖<sup>[39]</sup>。Fourier 红外数据表明, 海藻糖-头孢西丁系统相分离成两个几乎纯的组分, 而对稳定性无保护作用。葡聚糖作蛋白质冷冻保护剂没有蔗糖好, 因为葡聚糖和蛋白质溶液在开始结冰时即发生相分离。溶液中的冷冻保护机制可用优先排除假说来解释<sup>[40]</sup>。

海藻糖是非还原性二糖, 由两个 D-葡萄糖单体组成, 由于在一些能耐脱水的动物中发现, 故被建议用作喷雾干燥或冷冻干燥时失活药物的稳定剂<sup>[41]</sup>。Herceptin® (Trastuzumab) 是重组 DNA 源单克隆抗体 (MAb), 用于治疗已

转移的乳腺癌。MAb 的冻干剂用  $\alpha$ ,  $\alpha$ -海藻糖二水物稳定。海藻糖也可作为冷冻保护剂, 防止脂质体聚集和泄漏。在干燥状态下, 碳水化合物如海藻糖和肌醇, 作为水的代替品发挥其防护作用<sup>[42]</sup>。

赋形剂有时可在处方中调节密度, 尤其对给药后会与 CSF 接触的药物。CSF 的相对密度在 37℃ 时为 1.0059。与 CSF 同样相对密度的溶液被称为等压液, 当溶液的相对密度大于 CSF 时被称为高压液。服用后, 高相对密度溶液进入脊髓时会沉积并且会影响脊髓末梢的脊髓神经。如辛可卡因盐酸盐溶液 (NUPERCAINE 1:200) 是等压的, 1:500 的是高压的 (相对密度在 37℃ 时为 1.0036)。由于添加了 5% 右旋糖溶液, 奴白卡因重溶液是高压的, 这种溶液会阻塞 (麻痹) 较低端的脊髓神经, 因其沉积在脊髓里。

## 8. 特别添加剂

特别添加剂在制剂处方中发挥特别作用 (表 9)。以下是特别添加剂及其用途的摘要:

(1) 葡萄糖酸钙注射液 (美国试剂) 是 10% ( $w/v$ ) 饱和溶液。0.46% ( $w/v$ ) 蔗糖钙盐四水化合物用于防止在温度波动时结晶。

(2) Cipro IV® (环丙沙星, Bayer) 乳酸作为抗生素的增溶剂。

(3) Permarin Injection® (共轭雌激素, Wyeth-Ayerst Labs) 含有西甲基硅油以避免冻干制剂在复溶时形成泡沫。

(4) 醋酸地塞米松 (Dalalone DP, Forest, Decadron-LA, Merck) 及地塞米松磷酸钠 (Merck) 以悬浮剂或溶液使用。处方中肌酸或肌酸酐作为添加剂。

(5) Adriamycin RDF® (盐酸阿霉素, Pharmacia-Upjohn) 含甲基对羟基苯甲酸酯, 0.2mg/mL 用于增加溶出<sup>[43]</sup>。

(6) Ergotrate Maleate (麦角新碱马来酸盐, Lilly) 含 0.1% 乙基乳酸盐作为增溶剂。

(7) Estradurin Injection® (聚雌二醇磷酸盐, Wyeth-Ayerst Labs) 用烟酰胺 (12.5mg/mL) 作为增溶剂。Hydetrasol® 也含烟酰胺。水溶助长剂用于增加水的溶解度, 已试用于几种化合物中, 包括蛋白质<sup>[44,45]</sup>。

(8) 铝, 以氢氧化铝、铝磷酸盐或硫酸铝钾的形式, 用于各种各样的疫苗处方中以增强产生免疫的反应。

(9) Lupron Depot Injection® 是供肌肉注射的明胶和 PLGA 冻干的微球。Lupron Depot 为 PLGA 微球。

(10)  $\gamma$ -环糊精作为稳定剂在 Cardiotec® 以 50mg/mL 的浓度使用。

(11) Alprostadil (Ede®, Schwartz) 是冻干前列腺素 E<sub>1</sub> 产品, 用  $\alpha$ -环糊精包合。该复合物比原药物有更好的稳定性和水中溶解性。

(12) 伊曲康唑 (Sporanox®, Janssen) 用羟丙基  $\beta$ -环糊精包合后增溶。

(13) 辛酸钠具有抗真菌作用, 但也用于改善白蛋白溶液对热的稳定性。白蛋白溶液可以在辛酸钠存在下加热至

60℃进行10h巴氏法灭菌。乙酰基色氨酸钠也可用于白蛋白处方中。

(14) 甲葡胺 (*N*-methylglucamine 甲基葡糖胺) 可形成原位盐使用。例如, 泛影酸, X 射线造影剂, 热压灭菌时作为加入甲葡胺盐比钠盐更加稳定<sup>[46]</sup>。甲葡胺也被添加到 Magnevist® 中作为磁共振显影剂。

(15) Tri-*n*-butyl 磷酸盐作为赋形剂用于人的免疫球蛋白溶液中 (Venoglobulin®)。它在处方中确切的作用尚未知, 可能是作为一种净化剂。

(16) 血管假性血友病因子被用于稳定重组抗血友病因子 (Bioclone®)。

(17) 麦芽糖作为等渗调节剂和稳定剂应用在免疫球蛋白处方中 (Gamimune®)。

(18) 6-氨基己酸在阿尼普酶中用作稳定剂 (Eminase® 注射剂)。

(19) 在锌和鱼精肽中添加胰岛素来形成复合体以控制作用的持续时间。

表 9 特别赋形剂

赋形剂	实 例
乙酰色氨酸	Human Albumin (American Red Cross)
氢氧化铝	Recombivax HB® (Merck)
磷酸铝	Tetanus Toxoid Adsorbed (Wyeth-Ayerst)
硫酸铝钾	TD Adsorbed Adult (Pasteur Merieux)
$\epsilon$ -氨基乙酸	Eminase® (Roberts)
D-蔗糖钙	Calcium Gluconate (American Regent)
辛酸钠	Human Albumin (American Red Cross)
8-氯茶碱	Dimenhydrinate® (Steris)
肌氨酸	Dalalone DP® (Forest)
肌氨酸酐	Decadron® (Merck)
胆固醇	Doxil® (Sequus)
胆甾烯基硫酸钠	Amphotec® (Sequus)
$\alpha$ -环糊精	Edex® (Schwartz)
$\gamma$ -环糊精	Cardiotec® (Squibb)
羟丙基- $\beta$ -环糊精	Sporanox® (Janssen)
二硬脂基磷脂酰胆碱	DaunoXome® (Nexstar)
二硬脂基磷脂酰甘油	MiKasome® (NeXstar)
L- $\alpha$ -二肉豆蔻酰卵磷脂	Abelcet® (The Liposome Co.)
L- $\alpha$ -二肉豆蔻酰磷脂酰甘油	Abelcet® (The Liposome Co.)
二油酸磷脂酰胆碱 (DOPC)	DepoCyt® (Chiron)
二棕榈酸磷脂酰甘油 (DPPG)	DepoCyt® (Chiron)
二硬脂基磷胆乙醇胺 (MPEG)	Doxil® (Sequus)
泛影酸	Conray® (Mallinckrodt)
乳酸乙酯	Ergotrate maleate (Lilly)
亚乙基二酰胺	Aminophylline (Abbott)
L-谷氨酸钠	Kabikinase® (Pharmacia-Upjohn)
氢化大豆磷脂	Doxil® (Sequus)
柠檬酸胺铁	Tice BCG® (Organon)
乳酸	Cipro IV® (Bayer)
D, L-乳酸羟基乙酸-共聚物	Zoladex® (Zeneca)
甲葡胺	Magnevist® (Berlex)
烟酰胺	Estradurin® (Wyeth-Ayerst)
甲基对羟基苯甲酸	Adriamycin RDF® (Pharmacia-Upjohn)
鱼精蛋白	Insulatard NPH® (Novo Nordisk)
西甲基油	Premarin Injection® (Wyeth-Ayerst)

续表

F

赋形剂	实 例
糖精钠	Compazine Injection® (Smith Kline Beecham)
三丁基磷酸酯	Venoglobulin® (Alpha Therapeutic)
三油精甘油酯	DepoCyt® (Chiron)
血管假性血友病因子	Bioclate® (Arco)
锌	Lente Insulin® (Novo Nordisk)
乙酸锌	Nutropin Depot® (Genetch)
碳酸锌	Nutropin Depot® (Genetch)
氧化锌	Humalog® (Lilly)

FDA 公布的《非活性成分指南》中按字母顺序排列赋形剂<sup>[14]</sup>。每个赋形剂注明给药途径,在某种情况下用于已批准药品的浓度范围。这张名单不提供这些赋形剂的商品名。表 10 摘列了所有在《非活性成分指南》里列出的赋形剂,但在医师桌面参考(PDR)、情报处方或可注射药物手册中是没有出现的。

在日本,《日本药物赋剂目录》是由日本药物赋形剂委员会在健康和福利部的合作指导下出版的<sup>[47]</sup>。这个指南将赋形剂分类如下:

(1) 药典许可的赋形剂。在日本有 590 种赋形剂被日本药典和日本药物目录以及日本药用赋形剂所认可,并已确定对其的试验方法和标准。表 11 列出了注射用药物药典许可的赋形剂。

(2) 非药典许可的赋形剂。在日本有 522 种赋形剂被用于在日本销售的药品,并且即将被归纳入药典许可的赋形剂文件或者是补充文件。表 12 列出了可用于注射用药物的非药典许可的赋形剂。

表 10 1996 年 FDA《非活性成分指南》中的赋形剂表

苯基氯 丁基对羟基苯甲酸酯 卡地酰胺钠 卡特利多钙 微晶纤维素 去氧胆酸 二环己基碳二亚胺 二乙醇 地索苯宁 多库酯钠 乙二胺 依沙美肪 葡庚糖酸钠 葡庚糖酸钙 葡萄糖醛酸 盐酸胍 盐酸碘非他胺 乳糖酸 利多苯宁 MEDROFENIN 亚甲基双磷酸氢钠 亚甲磷酸 甲硼酸 甲基纤维素 甲基蓝 N-(氨基甲酸-甲氧基聚乙二醇 2000)-1, 2-二硬脂酰 N-2-羟乙基哌嗪-N'-2'-乙烷磺基酸 1, 2-环己二酮二肟 硝酸 羟唑唑啉 乙琥红霉素 (DTPA) 钙三钠	泊洛沙姆 165 PEG 4000 聚氧乙烯脂肪酸酯 聚氧乙烯山梨糖醇单硬脂酸酯 聚氧 35 蓖麻油 吐温 40 吐温 85 氢氧化钾 磷酸氢二钾 硫酸氢钠 氯酸钠 次氯酸钠 碘化钠 焦磷酸钠 无水硫代硫酸钠 三偏磷酸钠 司盘-20 氯化亚锡 氟化亚锡 酒石酸亚锡 淀粉 二巯丁二酸 琥珀酸 亚硫酸 Tetrakis (1-异氰基-2-甲氧基-2-甲基丙酸盐) 铜 (I) Tc 噻唑肟酸 尿素 乙酸锌 氯化锌 2-乙烷基乙酸 PEG 植物油
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



表 11 日本药典许可的赋形剂

名 称	用 途	给药途径
金合欢	稀释剂, 分散剂	im
乙酸	缓冲剂, 溶剂, 稳定剂	iv, im, sc
丙氨酸	稳定剂	iv, im
硬脂酸铝	分散剂, 稳定剂, 介质	other inj.
硫酸铝钾	pH 调整剂, 稳定剂	im, sc
氨基乙酸	缓冲剂, 增溶剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质	iv, im, sc, ic
无水柠檬酸	缓冲剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, other inj.
无水磷酸氢二钠	缓冲剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂, 混悬剂	iv, im, sc, other inj.
无水磷酸二氢钠	缓冲剂, pH 调整剂, 稳定剂	iv, im, other inj.
盐酸精氨酸	缓冲剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc
抗坏血酸	抗氧化剂, 缓冲剂, 稳定剂	iv, im, sc, ia
L-天门冬氨酸	增溶剂, 稳定剂, 介质	iv, im
氯化苯甲铵	缓冲剂, 防腐剂, 稳定剂	iv, im, other inj.
苯索氯胺	分散剂, 防腐剂, 稳定剂	iv, im
苯甲酸苯甲酯	缓冲剂, 防腐剂, 稳定剂	iv, im, sc, ic, other inj.
苯甲醇	防腐剂, 增溶剂, 溶剂, 稳定剂	im
苯甲酸苄酯	防腐剂, 增溶剂, 溶剂	iv
溴化钙	等渗剂, 稳定剂	iv
氯化钙	等渗剂, 缓释剂	iv, ic, ia, is, other inj.
EDTA 钙二钠	稳定剂	iv, im, sc
葡萄糖酸钙	缓冲剂, 稳定剂	iv
氧化钙	增溶剂	iv
D-蔗糖酸钙	稳定剂	im, sc
山茶花油	溶剂	im, ic, sc, other inj.
羧甲基纤维素	乳化剂, 增溶剂, 稳定剂, 混悬剂	im
蓖麻油	增溶剂, 溶剂	iv, im, sc
氯代丁醇	缓冲剂, 防腐剂	iv, im, sc, ia
柠檬酸	抗氧化剂, 缓冲剂, pH 调整剂, 防腐剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc
浓缩甘油	等渗剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, ic, sc, other inj.
肌氨酸酐	缓冲剂, 稳定剂	iv, im, sc
甲酚	防腐剂	iv
L-胱氨酸	稳定剂	iv, im, sc
脱水乙醇	增溶剂, 溶剂	iv, im
葡聚糖 40	稳定剂, 介质	sc
葡聚糖 70	稳定剂	iv, im, sc
二元硫酸钾	缓冲剂, pH 调整剂	iv
二元枸橼酸钠	缓冲剂, 介质	iv, im, sc, ia, is
二元磷酸钠	缓冲剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂, 介质	ic, other inj.
稀盐酸	缓冲剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc
N, N-二甲基乙酰胺	溶剂	iv
葡萄糖	缓冲剂, 等渗剂, 增溶剂, 稳定剂, 介质	iv, im, sc, ic
甘油	分散剂, 等渗剂, 防腐剂, 增溶剂, 溶剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质	iv, im, sc, other inj.
肝素钠	稳定剂	iv
L-组氨酸	稳定剂	iv

续表

名 称	用 途	给药途径
盐酸	pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc, ia, is, ic, other inj.
羟己基乳酰胺溶液	增溶剂	iv
羟丙基纤维素	乳化剂, 增溶剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质	im
等渗氯化钠溶液	等渗剂, 溶剂	iv, im, sc, ia, ic, other inj.
乳酸	缓冲剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc
乳糖	分散剂, 混悬剂, 介质	iv, im, sc, ia, ic, other inj.
利多卡因 (局部麻醉剂)	增溶剂, 溶剂	iv, im
L-赖氨酸-L-谷氨酸	增溶剂, 稳定剂	iv
盐酸赖氨酸	稳定剂	iv
PEG 400	增溶剂	iv
PEG 4000	等渗剂, 增溶剂, 溶剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质, 润湿剂	iv, im, sc
氯化镁	等渗剂, 增溶剂, 稳定剂	iv
葡萄糖酸镁	稳定剂	iv
硫酸镁	稳定剂	iv, im, sc
苹果酸	缓冲剂, pH 调整剂, 稳定剂	im
苹果酸酐	增溶剂, 稳定剂	iv
麦芽糖	稳定剂	iv, im, sc, ic, other inj.
甘露醇	等渗剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc, ic, other inj.
甲葡胺	pH 调整剂, 增溶剂	iv
美普鲁卡因	表面麻醉剂	iv, im, sc
甲磺酸	pH 调整剂	im, sc
L-甲硫氨酸基丁酸	稳定剂	dental inj.
甲基对羟基安息香酸盐	防腐剂, 稳定剂	iv, im, sc, ic, other inj.
一价磷酸钾	缓冲剂, 等渗剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc, ic
单乙醇胺	缓冲剂, pH 调整剂, 增溶剂, 稳定剂	iv
一价谷氨酸钾 L-一水化合物	防腐剂, 稳定剂	sc
一价谷氨酸钠 L-一水化合物	缓冲剂	iv, im, sc
烟酰胺 (烟碱)	等渗剂, 增溶剂, 稳定剂	iv, im, sc, other inj.
花生油	增溶剂, 溶剂, 混悬剂	im
豚	稳定剂	sc
酚	防腐剂, 防腐剂	ic, im, sc, ic, other inj.
EDTA 二钠	抗氧剂, 防腐剂, 保混悬剂, 稳定剂	iv, ia, other inj.
磷酸	缓冲剂, 等渗剂, pH 调整剂	iv, im, sc
聚氧乙烯氢化蓖麻油 60	分散剂, 乳化剂, 增溶剂, 稳定剂, 表面活性剂, 混悬剂, 介质	iv, im, sc
聚氧乙烯氢化蓖麻油 51	分散剂, 乳化剂, 加溶剂	iv, im, sc, is
聚氧乙烯[160], 聚氧丙烯[30], 乙二醇	分散剂, 乳化剂, 增溶剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质, 表面活性剂, 润湿剂	iv
吐温 80	分散剂, 乳化剂, 增溶剂, 表面活性剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质, 润湿剂	iv, im, sc, ic, other inj.
硫酸钾	稳定剂	local anesthetic inj.
金合欢粉	分散剂, 混悬剂	im, sc
丙二醇	分散剂, 等渗剂, 防腐剂, 增溶剂, 溶剂, 稳定剂, 混悬剂, 介质, 润湿剂	iv, im, sc

续表

名 称	用 途	给药途径
丙基对羟基安息香酸盐	防腐剂，混悬剂，稳定剂	iv, im, sc, ic, other inj
硫酸鱼精胺	缓释剂	sc
纯化明胶	基质，稳定剂，混悬剂，介质	iv, im, sc
大豆卵磷脂	分散剂，乳化剂，增溶剂，稳定剂	iv
纯蛋黄卵磷脂	乳化剂	iv
芝麻油	基质，增溶剂，溶剂，稳定剂，介质	iv, im, sc, other inj.
乙酸钠	缓冲剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc, other inj.
乙酰基色氨酸钠	稳定剂	iv, sc
苯甲酸钠	防腐剂，缓冲剂，防腐剂，增溶剂，稳定剂	im
重碳酸钠	缓冲剂，等渗剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc, is, ic, other inj.
亚硫酸氢钠	抗氧化剂，等渗剂，稳定剂	iv, im, sc, other inj.
溴化钠	等渗剂	iv, im, sc
辛酸钠	稳定剂	iv, sc
碳酸钠	缓冲剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc
氯化钠	基质，缓冲剂，等渗剂，增溶剂，稳定剂，介质，混悬剂	iv, im, sc, ia, is
硫酸钠软骨素	稳定剂	iv
枸橼酸钠	防腐剂，缓冲剂，等渗剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc, ic, ia, is, other inj.
脱氧胆酸钠	增溶剂	ic, iv, is
二氢磷酸钠二水合物	缓冲剂，等渗剂，pH 调整剂，稳定剂	iv, im, sc, ia, is, other inj.
甲醛化次硫酸钠	稳定剂，等渗剂，pH 调整剂	iv, im
氢氧化钠	增溶剂	iv, im, sc, ia, ic, other inj.
水杨酸钠	防腐剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc
硫代苹果酸钠	抗氧化剂，稳定剂	im
硫代硫酸钠	增溶剂，稳定剂	iv, im, sc
半油酸山梨糖醇酐	基质，乳化剂，增溶剂，稳定剂，表面活性剂，介质	iv, im
D-山梨糖	分散剂，等渗剂，增塑剂，防腐剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc, other inj.
D-山梨糖溶液	基质，等渗剂，增溶剂，稳定剂，介质	im, sc, other inj
大豆油	基质，增溶剂，溶剂，介质	iv
氯化亚锡	还原剂	iv
蔗糖	基质，稳定剂，介质	iv, sc
酒石酸	缓冲剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂，介质	iv, im
硫柳汞	防腐剂	iv, im, sc
硫代乙二醇酸	增溶剂，稳定剂	iv, im, sc
三价磷酸钠	缓冲剂，pH 调整剂	iv, im, sc
氨丁三醇	缓冲剂，增溶剂，稳定剂	iv, im, sc, ia, is
尿素	增溶剂，稳定剂，润湿剂	ic
注射用水	增溶剂，溶剂	iv, im, sc
木糖醇	等渗剂，稳定剂，介质	iv, im, sc, ia, is
乙酸锌	稳定剂	ic, other inj.
氯化锌	稳定剂	iv, im, other inj.
氧化锌	分散剂，稳定剂，介质	sc

## F

## 赋形剂的管理情况

国际药用赋形剂委员会 (IPEC) 基于可用的安全试验资料, 将赋形剂分为 4 类<sup>[48]</sup>:

(1) 新的化学赋形剂。要求一个完整的安全试验评估计划。对一个新的化学赋形剂而言, 安全性研究估计成本大约需 3500 万美元以及至少 4~5 年的时间。欧盟 (EU) 75/318/EEC 指出新的化学赋形剂将与新活性成分要求相同。在美国, 新的赋形剂要求其药品主文件 (DMF) 提交至 FDA。同样地, 在欧洲, 也要建立档案。DMF 和档案均包含了相应的安全信息。欧洲 IPEC 已发布一个草稿指南 (赋形剂主文件编制指南), 指导赋形剂的生产商怎样构建一个档案, 用于支持行销授权申请 (MAA) 并且维持数据的机密性。

(2) 已有的化学赋形剂——首次应用于人体。已有动物安全性数据, 用于某些其他申请。尚须另外的安全资料以判断其在人体上的应用。

(3) 已存在的化学赋形剂。已经被应用于人体, 只是改变了给药途径 (从口服到注射), 使用了新的剂型, 采用了较高用量等。可能要求另加安全资料。

(4) 已有赋形剂的改良或组合物。不是化学反应, 仅为物理的相互作用, 不需要安全性评价。

不能简单地将一种已被列入安全物 (GRAS) 的赋形剂用于可注射剂型中。GRAS 列出了那些已证明对食品是安全的原料 (口服用药), 但不能认为其用于注射用产品时是安全的。这些给制剂研究者在剂型研究选择赋形剂时增加了困难。

许多药典的专论对同一种赋形剂在规格、测试标准、分析法上差异很大。因而, 如果一个制药企业要将产品在世界各地销售, 必须对同样赋形剂重复测试多次以使其适用于 USP、JP、EP、BP 和其他各国药典。英国、日本和美国药典是 ICH 的主要推动力量, 他们对共同使用的赋形剂进行研究以对各赋形剂形成一个专论。比方说, 苯甲

醇由自由基降解形成苯甲醛和过氧化氢。降解物比母体更具毒性。美国、日本和欧洲药典要求三种不同的色谱法系统对有机杂质 (主要是苯甲醛) 进行测试。苯甲醇统一的专论将剔除那些对产品的整体质量无关的不必要的重复<sup>[49]</sup>。以下 11 个药典测试能被单一的气相色谱分析法 (GC) 所代替:

EP:

- 苯甲醛, 相关物质 (GC)
- 被卤化的化合物和卤化物 (比色法测试)
- 分析 (羟基值)

JP:

- 苯甲醛限度试验
- 氯化物的限度试验
- 蒸馏范围测定 (羟基值)

NF/USP:

- 苯甲醛 (HPLC)
- 被卤化的化合物和卤化物 (比色法测试)
- 有机挥发性杂质 (GC)
- 测定 (羟基值)

统一操作仅是起点, 但它是朝正确方向前进的重要一步。

管理机关关注的其他方面是赋形剂的制造过程。IPEC 最早为改善赋形剂质量出版了《药用赋形剂 GMP 指南》<sup>[50]</sup>。赋形剂可用于食品、化妆用品、化学制品、农业, 或制药业, 但各领域的要求是不同的。该指南的目的有两方面: ①为赋形剂供应商建立一个并且制药业也能接受的质量系统框架; ②统一美国、欧洲、日本的要求。

美国、欧洲和日本要求如果产品是可注射的, 应在所有的赋形剂标签中说明。欧洲标签和包装单页指南也要求列出那些有特别要求的赋形剂。这些详情见附录<sup>[51]</sup>。表 13 是常用的注射用赋形剂, 必须在单页中写出其相应的安全信息。同样, 21 CFR 201.22 要求含硫化物的处方药应标示警告可能的过敏。USP <1091> 章节题为“不活泼的成分标示”, 对在制剂中不活泼的成分的标示提供了指南。

表 12 非药典的日本药用赋形剂

名 称	用 途	给药途径
氯化铝	增效剂	im, sc
氢氧化铝	吸附剂	sc, im
氨基乙磺基酸	缓冲剂, 等渗剂, 稳定剂, 介质	iv, im
乙酸氨	pH 调整剂	im
无水氯化亚锡	还原剂	iv
L-精氨酸	缓冲剂, 稳定剂, 增溶剂	iv, im, sc
无菌法小苏打	稳定剂	iv
丁基羟基茴香醚 (BHA)	抗氧化剂, 稳定剂	iv
m-甲酚	防腐剂	iv, im, sc, ic
L-半胱氨酸	稳定剂	iv
氯化半胱氨酸	抗氧化剂, 稳定剂	iv, im

续表

名 称	用 途	给药途径
二氯二氟代甲烷	推进剂（抛射剂）	iv
二乙醇胺	缓冲剂，增溶剂，稳定剂	iv
二乙烯三胺五乙酸	稳定剂	iv
氯化铁	稳定剂	iv
高纯卵黄质卵磷脂	乳化剂	iv
人体血清白蛋白	防腐剂，稳定剂	iv, im, sc
水解明胶	稳定剂	sc
肌醇	稳定剂，介质	iv, im
氯化利多卡因	表面麻醉剂	im
D, L-氨基甲硫丁酸	稳定剂	im, sc
一价磷酸钠	缓冲剂，等渗剂，pH 调整剂	iv, im, sc
油酸	分散剂，溶剂	iv
酚红	着色剂	sc
聚氧乙烯蓖麻油	基质，乳化剂，增溶剂，稳定剂	iv
氢化聚氧乙烯氢化蓖麻油	基质，乳化剂，增溶剂，稳定剂，混悬剂，介质	iv
聚氧乙烯山梨糖醇单月桂酸	乳化剂，增溶剂，表面活性剂	iv, im, sc
焦亚硫酸钾	稳定剂	iv, sc, im
硫氰酸钾	稳定剂	iv
纯化大豆油	增溶剂	iv
乙酸钠（无水物）	缓冲剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂	im
碳酸钠（无水物）	缓冲剂，增溶剂	iv, im, ic
磷酸二氢钠一水化合物	缓冲剂	ic
葡萄糖酸钠	稳定剂，介质	iv, im
焦亚磷酸钠（无水物）	分散剂，等渗剂，稳定剂	iv, im, is
亚硫酸钠	抗氧化剂，稳定剂	iv
巯基乙醇酸钠	抗氧化剂，稳定剂	iv, im, sc
脂肪酸山梨醇酯	乳化剂，增溶剂，表面活性剂，稳定剂，混悬剂，介质	iv
琥珀酸	pH 调整剂	sc
$\alpha$ -硫甘油	抗氧化剂	iv, im, sc
三乙醇胺	缓冲剂，pH 调整剂，增溶剂，稳定剂	iv
氯化锌溶液	稳定剂	im, sc

表 13 标签说明的赋形剂及单页上有关的信息

名 称	单页说明
花生油	当标签上使用 arachis oil（花生油）时，在旁边应同时标注 peanut oil（花生油），因为一些患者对花生敏感
苯甲酸和苯甲酸酯	增加新生儿黄疸风险
苯基乙醇	婴儿或 3 岁以下幼儿禁忌
硼酸盐和酯类	婴儿或 3 岁以下幼儿禁忌
二甲基亚砷	能导致反胃，腹泻，睡意及头疼
乳糖	不适于乳糖酶缺乏者、半乳糖或葡萄糖半乳糖吸收不良综合征患者
有机汞化合物	能引起肾损伤
对羟基苯甲酸及其酯类	导致风疹，一般延迟性反应，譬如接触皮炎
氨基苯基丙酸	对人苯丙酮尿是有害的
聚乙烯己氧蓖麻油	仅在注射使用时警告：过敏，血压下降，血循环不足，呼吸困难，潮热

续表

名 称	单页说明
钾	在静脉注射部位导致疼痛或静脉炎
钠	对低钠饮食的人有害
山梨糖醇	不适合有遗传性的不耐糖
蔗糖	不适遗传性的不耐糖, 葡萄糖半乳糖吸收不良综合症状, 或蔗糖酶-异麦芽糖, 6-葡萄糖- $\alpha$ -葡萄糖苷酶缺乏者
硫化物 (含二硫化物)	能导致过敏反应, 包括过敏反应症状和支气管痉挛的患者, 特别是那些有哮喘或过敏病史的
尿素	静脉注射时导致静脉的血栓静脉炎

## 赋形剂和供应商的选择标准

在开发注射剂时, 配方设计者选择的赋形剂应能提供稳定、有效和具有功能的产品。赋形剂的选择及其特性应适合于使用目的。

应该提供处方中所有组分的作用, 说明加入赋形剂的合理性。有时必须用实验数据来证明为何必须加入这些赋形剂, 如防腐剂。赋形剂质量的选择应由其在处方中的作用及相应工艺过程而定。有时在处方中某些赋形剂的质量必须说明和评价<sup>[52]</sup>。

通常, 在美国, 书面的药物开发报告, 应在批准检查前 (PAI) 提交。该报告包括赋形剂的选择, 它们的作用和在药品中的量, 与其他赋形剂、药物及包装系统的兼容性, 以及它们可能怎样影响最终产品的稳定性和药效。

在选择注射用赋形剂及其供应商时以下几点可供考虑:

(1) 赋形剂对整体质量、稳定性及药品的有效性的影响。

(2) 赋形剂和药物及包装系统的相容性。

(3) 赋形剂和制造过程的相容性。例如, 防腐剂可能被橡胶管或滤器吸附, 乙酸盐缓冲剂在冻干过程中挥发。

(4) 可以加入到药品中赋形剂的量或百分比。表 6 是各国药典允许防腐剂和抗氧化剂的最大量。

(5) 给药途径。美国、欧洲和英国药典中不允许防腐剂用于与脑组织或 CSF 接触的注射剂。因而, 池内、硬膜外, 以及硬膜内的注射剂应无防腐剂。同样, 静脉注射 (IV) 给药的应无微粒物质。如果微粒的大小是可控的, 如脂肪乳剂或胶态白蛋白或两性霉素 B 分散剂, 还是可以由静脉途径注射。

(6) 注射容量。EP/BP 要求所有 LVP 和注射容量大于 15mL 的那些 SVP 无防腐剂。美国药典建议对容量超出 5mL 的注射剂, 要特别注意在制备时选择和使用附加剂。

(7) 该产品是一次或多剂量使用。根据美国药典, 一次使用注射剂应无防腐剂。FDA 认为尽管一次使用的注射剂可以采用灭菌, 制造厂不应用防腐剂来防止微生物成长。但欧洲机构对该问题采取较宽容的态度。

(8) 多次使用的注射剂一旦被打开, 该产品将被使用的时间是多久。

(9) 赋形剂安全性如何?

(10) 是否该注射用的赋形剂含有很低水平的铅、铝或其他重金属?

(11) 赋形剂文件是否有档案或 DMF?

(12) 该赋形剂在人体使用过吗? 是否曾用于注射给药以及将使用的剂量和浓度?

(13) 含有该赋形剂的药品是否被全世界批准?

(14) 赋形剂的成本是多少以及是否容易获得?

(15) 赋形剂是否遵从 IPEC GMP 指南? 供应商是否有 ISO9000 资格证明?

(16) 赋形剂供应商证明该材料符合 USP、BP、EP、JP 药典, 和其他药典?

(17) 供应商由 FDA 或公司的审计小组验核了吗? 价格如何?

赋形剂中的杂质可能对安全性、药效或药物的稳定性有很大影响。若在聚合过程中的单体或金属催化剂是毒性的, 即使痕量的存在也会使药品不稳定。出于安全性考虑, 聚乙烯吡咯烷中氯乙烯 (单体) 限定在不超过 10ppm, 联氨 (聚合反应副产品) 不超过 1ppm。单氧化乙烯是高毒性的, 可能存在于乙氧基化物赋形剂 (如 PEG, 乙氧基化物脂肪酸等) 中。

FDA 发布的指南建议源自动物的材料, 如用于药品的蛋黄卵磷脂、蛋磷脂, 1999 年 1~6 月比利时、法国、荷兰的产品应该检测有无戴奥辛和多氯化联苯存在。来自动物产品的污染可能与动物饲料有关。

由发酵过程制造的赋形剂, 如葡萄糖、柠檬酸、甘露醇和海藻糖须特别控制内毒素水平。天然赋形剂的真菌毒素 (某些真菌的高毒性代谢产物) 污染, 尚未被管理当局特别地提出。1997 年德国卫生局发布了一个草稿指南限定了黄曲霉素 M1、B1 以及药品的起始材料中的 B1 和 B2、G1、G2 总和的限度。

赋形剂的重金属污染, 特别是对糖、磷酸盐和枸橼酸盐的污染是值得关注的问题, 相关的法规已经建立或正在提交。例如, 欧洲药典限定在多羟基化合物里的铬为不超过 1ppm。加利福尼亚 65 号提议限定每个产品铅不超过  $0.5\mu\text{g}/\text{d}^{[53]}$ 。同样, FDA 指南对在 TPN 疗法中使用的所有 LVP 的铝限定为  $25\mu\text{g}/\text{L}^{[54]}$ 。此外, 它要求加入到 LVP 的 SVP 和在有效期中的药房批量包装, 最大铝含量直接写在

容器标签上。

在指定再评估时间内应该考虑赋形剂的物理和化学稳定性。因为许多药品活性成分少、赋形剂多，即使很小百分比的赋形剂降解，产生杂质的水平足以使活性物质降解的百分比增大。例如，苯甲醇在光和氧气作用下通过自由基机制分解，形成苯甲醛（ $x\%$ 苯甲醛是近似地等效的到 $1/3x\%$ 过氧化氢）。过氧化氢可迅速地氧化氨基酸（如肽和蛋白质）中半胱氨酸的巯基。

对药用赋形剂供应商的选择要有足够的考虑和研究。供应商改变它的制造过程以更有效地生产（降低成本）并不少见。通常，赋形剂是低价格、大批量地用于数种工业的产品。制药工业，不是赋形剂的主要顾客（就购买量而定）。例如，制药工业用大约20%明胶。这20%，多数用于口服制剂。注射用大约是这20%中的5%。所以，药物制造商必须同赋形剂供应商有合同，没有事先通知用户前不准供应商在材料的质量操作中有任何变动。并且，药物制造者应该调查在紧急状态下的所有可供选择的来源。供应商的变化未经咨询相关管理机构则不予考虑，这些事情都要求事先的批准。

制药厂应该有一个主动的供应商认证程序。制造者还应该保证，供应商是ISO 9000认证的。必须对赋形剂制造者进行审计，因为制药工业负责最后对包括赋形剂作为组分之一药品的质量。IPEC GMP指南作为审计工具，因为它以ISO 9000格式，使用相同命名原则和段编号。审计是保证赋形剂质量的，否则以后收到材料进行质控是难以测定的，特别对于注射用赋形剂，不光是化学的而且微生物特性也是重要的。每种赋形剂的生物污染和内毒素也需限制，几个指南对于建立该规格均有用<sup>[55,56]</sup>。

近来，海地事件突显出保证赋形剂的质量与活性成分一样重要。从1995年11月至1996年6月，86个孩子被诊断为深度无尿症肾衰竭。这是由于使用了二乙基丙二醇污染的甘油制造醋酐酚糖浆<sup>[57]</sup>。

## 安全性

文献[58]是一篇很好的关于一些赋形剂的安全性和副反应的资料。有报告讨论对羟基苯甲酸酯类，硫柳汞和丙基没食子酸盐的过敏反应。山梨糖醇可代谢成果糖，对不耐果糖的患者可能是危险的。表13也列出了一些需要考虑的赋形剂安全性问题。

药物传递系统的发展和新的蛋白质/多肽注射给药剂型需要更多的能安全使用的赋形剂。USP 24有与此有关的章节，提供了一种新药用赋形剂的安全性评估的科学方法<sup>[59]</sup>。该章节系根据国际药用赋形剂委员会的赋形剂安全性评估指南编写的，并进行了适当的校正。表14是开发新赋形剂的要求。

当前，动物来源的赋形剂，如明胶引起的可传染的海绵状组织脑病（TSE）很受关注。TSE是由毒蛋白（prions）引起的，该蛋白对热和一般灭菌过程有很高的抵抗

性。TSE有很长的潜伏期，无法医治，与其相关的疾病如下：

- 绵羊和山羊痒病；
- 牛海绵组织脑病（BSE）或疯牛病；
- 人的库鲁病；
- 人的克罗伊茨费尔特雅各布病（CJD），这是由于重复注射来自人脑下垂体的生长激素和促性腺激素所致。

表 14 赋形剂安全评估

测 试	注射的途径 <sup>1)</sup>
基础毒性数据	
急性口服毒性	需要
急性皮肤毒性	需要
急性吸入毒性	有条件
眼睛刺激性	必需的
皮肤刺激性	必需的
皮肤敏感性	必需的
急性注射毒性	必需的
使用部位评估	必需的
光毒性/光过敏症	必需的
基因毒性分析	必需的
ADME/PK-使用途径	必需的
28天毒性（2种动物）拟使用途径	必需的
附加的数据：短期或中期的重复使用	
90天毒性（最适宜的种群）	必需的
胚胎-胎儿毒性	必需的
附加分析	
基因毒性分析	必需的
免疫反应分析	必需的
附加的数据：用于长期或慢性使用	
慢性毒性（啮齿类动物，非啮齿类动物）	有条件的
再生殖毒性	必需的
光感致癌性	有条件的
致癌性	有条件的

1) 指给药途径，如iv，sc，鞘内等。

几个关于源自动物的赋形剂及尽可能减少通过医药产品传递TSE的指南已有公布<sup>[60,61]</sup>。已有证明，乳糖、丙三醇、脂肪酸及其酯类影响极小，但对明胶尚不清楚。这种情况下，如果要选择，也许选择非动物来源的赋形剂是最好的。牛血清白蛋白（BSA）或人血清白蛋白的使用（HSA）令人关注，它们可能来自病毒污染的血液。来自赋形剂的TSE风险可通过控制以下参数而被大大地降低：

- (1) 动物应来自未被报告BSE的国家。
- (2) 使用年轻动物。
- (3) 应使用类别Ⅲ或Ⅳ的动物组织制造的赋形剂<sup>[60]</sup>。
- (4) 应使用能灭活TSE的生产过程。

欧洲经济共同体指南75/318/EEC修正要求制造者提供“适用性证明”，或在市场变化的表格中的科学情报栏中

## 展望

证明他们的药物是无 TSE 的。

为了增加溶解性或改进注射给药稳定性,已有几种新赋形剂被评价。环糊精即为上述原因进行了试验。当前, $\alpha$ 和 $\gamma$ 两个环糊精被 FDA 批准为可注射用产品。 $\beta$ 环糊精不适合注射用, $\beta$ 环糊精在 IV 和皮下给药时导致接近肾小管地方的坏死<sup>[62]</sup>。羟丙基- $\beta$ 环糊精(HP- $\beta$ -CD)和磺丁基- $\beta$ 环糊精(SBE-7- $\beta$ -CD)有较多用处。Captisol™是 SBE-7- $\beta$ -CD 的商品名,是阴离子型的。当前,2 个小分子药物 IV 和 IM Captisol 药物处方在美国进行 III 期临床试验。使用 HP- $\beta$ -CD 的一种注射剂(Cavitron®)为临床 II/III 阶段,另一种(Sporanox)已被 FDA 批准。HP- $\beta$ -CE 和 SBE-7- $\beta$ -CD 制造者向 FDA 递交了 DMF。环糊精详细的综述最近已出版<sup>[63,64]</sup>。应该指出,环糊精能加速药品降解<sup>[65]</sup>,能隔离防腐剂使其无效<sup>[66]</sup>。

脱乙酰壳聚糖, $\beta$ -1,4-连接的氨基葡萄糖,是天然产物,可生物分解为无毒的聚阳离子生物聚合物,被研究作为交联骨架微球的载体来输送抗肿瘤药物。由于它带有电荷,能捕获一些药物并能强烈地与癌细胞结合,因此能减小药物毒性和提高治疗效果<sup>[67]</sup>。CHITOSAN 还能稳定脂质体。

生物可分解的聚合物,如聚乳酸、聚羟乙酸和其他聚 $\alpha$ -羟基酸,从 20 世纪 60 年代被用于医用器具以及可生物降解的缝线<sup>[68]</sup>。当前,FDA 只批准乙交酯、丙交酯、己内酯、对二氧杂环己酮和环丙烷碳酸酯的均聚物或共聚物的器具上市<sup>[69]</sup>。这些聚合物还可用来作为骨架型的注射药物的长时间给药<sup>[70]</sup>。至少有 4 种药品——Lupron Depot®、Decapeptyl®、Nutropin Depot®和 Zoladex®已被批准。这 4 种药品是 PLG、聚乳酸(PLA),或 PLGA 骨架的微球。聚乙交酯(PGA)为高度结晶(大约 50%),高熔点(220~225℃)。PLA 可由 L-乳酸的聚合(LPLA),D-乳酸(DPLA)或 D 和 L-乳酸混合(DLPLA)聚合而得。LPLA 是 37% 结晶,DLPLA 为无定形的。LPLA 的降解时间比 DPLA 慢得多,需要 2 年多。由乳酸和羟酸共聚的聚合物可有较大范围的性质(抗拉强度、结晶性和降解速率)。Decapeptyl®在法国已被批准,是 IM 给药的微球。药物包含在 PLGA 骨架中的还有羧甲基纤维素、甘露醇和吐温 80。

聚酸酐的降解主要是表面侵蚀,它具有优良的体内相容性。1996 年 FDA 批准用于化疗药物 BCNU 的脑给药系统,即是基于聚酸酐作用,现由 GUILFORD 制药公司生产。

几种磷脂赋形剂越来越多地用作增溶剂、乳化剂,或作为脂质体处方的组成物。来自天然的磷脂是生物相容性的和可生物降解的,如蛋黄磷脂、大豆卵磷脂、氢化大豆卵磷脂(HSPC)、DMPC、DSPC、DOPC、DSPE、DMPG、DPPG 和 DSPG。Spartaject™技术使用混合磷脂,包裹弱水溶性药物,为可供静脉注射的微悬浮剂。Busul-

fan®药品使用这项技术,现在正在进行 I 期临床试验。许多脂质体和类脂质体(DepoFoam®)或已批准或正在临床试验以减少药物毒性,改善药物稳定性,延长作用时间或输送药物至中枢神经系统<sup>[71]</sup>。2 种两性霉素制剂已在美国被批准:一种是脂质体;另一种抗真菌药物和正电荷类脂质的复合物。Amphotec®是两性霉素 B 和胆甾烯基硫酸盐 1:1 摩尔比复合物,Abelcet®是两性霉素 B 与磷脂(7 份 L- $\alpha$ -二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱和 L- $\alpha$ -二肉豆蔻酰磷脂酰丙三醇)1:1 摩尔比复合体。

泊洛沙姆或普朗尼克是由聚氧乙烯和聚氧丙烯组成的嵌断共聚物,具有逆热胶凝作用,可作为增溶剂、乳化和稳定剂。储库式给药系统可使用普朗尼克制成黏稠的注射剂,IM 注射后形成凝胶<sup>[72]</sup>。普朗尼克可防止蛋白质聚集或吸附/吸收,也能帮助冻干剂的复溶。普朗尼克 F68(泊洛沙姆-188)、F38(泊洛沙姆-108)以及 F127(泊洛沙姆-407)最为常用。例如,人体生长素和第 VIII 因子的液体制剂可用普朗尼克来稳定。具有高氧-运载能力的 Fluosol®为全氟化碳,为普朗尼克 F68 和各种类脂物乳化的复杂混合物,最近已被 FDA 批准用于冠状血管成形术时辅助治疗以减少心肌局部缺血。高纯化的泊洛沙姆 188(Flocor™),打算供 IV 给药使用,正在 III 期临床试验用于各种心血管疾病。纯化的泊洛沙姆 188 可减少肾脏的毒性。

泊洛沙姆和其他聚合物材料如白蛋白可用微米或纳米的包衣以改变它们的表面性质和减少在 IV 注入后被网状内皮系统的吞噬作用。如此的表面改性常可延长该胶体分散剂静注后在循环内的滞留时间<sup>[73]</sup>。泊洛沙姆还用于稳定混悬剂如 NanoCrystal™<sup>[74]</sup>。

第一个成功的可注射的全氟化碳商品是日本的绿十字公司完成的,Fluosol-DA®,是稀(20% w/v)的乳剂,即全氟化碳和全氟丁三胺用油酸钾、普朗尼克 F68 和蛋黄卵磷脂乳化的乳剂。这些碳氟化合物是惰性的,可被用于不能溶解的蛋白质和小分子的非水制剂。全氟化碳被 FDA 批准用于一超声波造影剂,Optison®,由 IV 给药。Optison®是人血白蛋白和八氟化碳的微球混悬剂。被稀释的人体血清白蛋白在八氟化碳气体存在下经热处理和超声处理,用来制造 Optison®微球注射剂。微球壳中的蛋白质占液体中总蛋白质的 5%~7% (wt%)。微球平均直径为 2.0~4.5  $\mu$ m,93% 的微球小于 10  $\mu$ m。

蔗糖乙酸异丁酸酯(SAIB)是高黏性液体系统,与 10%~15% 乙醇混合变成易流动液体<sup>[76]</sup>,在皮下或 IM 注射时,能很快转换成水不溶的半固体,能在长时间内输送蛋白质和小分子药物。SAIB 生物相容的,能生物降解成天然代谢产物。这是一个相当新的骨架,已有 3 个 IND 为兽用药提交,尚未被用于人体。

其他的一些可生物降解、生物相容、可注射的聚合物用于给药系统尚在研究中,如聚乙烯醇、PLA-PEG 均聚物、聚氰基丙烯酸酯、聚酸酐、纤维素、藻酸盐、胶原、明胶、白蛋白、淀粉、葡聚糖、透明质酸及其衍生物和羟磷灰石<sup>[77]</sup>。



## 参考文献

1. Parenteral Preparations. European Pharmacopoeia, 3rd Ed.; Council of Europe: Strasbourg, 1997; 1765.
2. Parenteral Preparations. British Pharmacopoeia; Stationary Office: London, 1999; II, 1575.
3. Uchiyama, M. Regulatory Status of Excipients in Japan. *Drug Inf. J.* 1999, 33, 27—32.
4. Nema, S.; Washkuhn, R. J.; Brendel, R. J. Excipients and their Use in Injectable Products. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1997, 51 (4), 166—71.
5. Wang, Y. J.; Kowal, R. R. Review of Excipients and pHs for Parenteral Products Used in United States. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1980, 34 (6), 452.
6. Powell, M. F.; Nguyen, T.; Baloiian, L. Compendium of Excipients for Parenteral Formulations. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1998, 52 (5), 236—311.
7. Wang, Y. J.; Hanson, M. A. Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1988, 42 (supplement), S4—S26.
8. Boylan, J. C.; DeLuca, P. P. Formulation of Small Volume Parenterals. *Pharmaceutical Dosage Forms; Parenteral Medications*, 2nd Ed.; Avis, K. E., Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 1, 173—48.
9. Strickley, R. G. Parenteral Formulations of Small Molecules Therapeutics Marketed in the United States (1999) —Part 1. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1999, 53 (6), 324—349.
10. Physician's Desk Reference, Medical Economics Co.: Montvale, 1994, 1996, 1998 & 1999.
11. Trissel, L. A. *Handbook on Injectable Drugs*, 10th Ed.; American Society of Health-System Pharmacists, Inc.: Bethesda, 1998.
12. Kibbe, A. H. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd Ed.; The Pharmaceutical Press: London, 2000.
13. Mosby's, GenRx (Ed.) 8th Ed. Mosby-Year Book, Inc.: St. Louis MO, 1998.
14. Inactive Ingredient Guide, Division of Drug Information Resources, Food & Drug Administration, CDER, January 1996.
15. Sweetana, S.; Akers, M. J. Solubility Principles and Practices for Parenteral Drug Dosage Form Development. *PDA J. Parenter. Sci. Technol.* 1996, 50 (5), 330—342.
16. Yalkowsky, S. H.; Roseman, T. J. Solubilization of Drugs by Cosolvents. *Techniques of Solubilization of Drugs*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1981; 91—134.
17. Rubino, J. T.; Yalkowsky, S. H. Cosolvency and Cosolvent Polarity. *Pharm. Res.* 1987, 4 (3), 220—230.
18. Hancock, B. C.; York, P.; Rowe, R. C. The Use of Solubility Parameters in Pharmaceutical Dosage Form Design. *Int. J. Pharm.* 1997, 148, 1—21.
19. Reed, K. W.; Yalkowsky, S. Lysis of Human Red Blood Cells in the Presence of Various Cosolvents. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1985, 39 (2), 64.
20. Brazeau, G. A.; Fung, H. Use of an In-vivo Model for the Assessment of Muscle Damage from Intramuscular Injections; In-vitro-In-vivo Correlation and Predictability With Mixed Solvent Systems. *Pharm. Res.* 1989, 6 (9), 766.
21. Brazeau, G. A.; Cooper, B.; Svetic, K. A.; Smith, C. L.; Gupta, P. Current Perspectives on Pain Upon Injection of Drugs. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87 (6), 667.
22. Yalkowsky, S. H.; Krzyzaniak, J. F.; Ward, G. H. Formulation-Related Problems Associated with Intravenous Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87 (7), 787.
23. Johnson, D. M.; Gu, L. C. Autoxidation and Antioxidants. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: NY, 1988; 1, 415—449.
24. Herman, A. C.; Boone, T. C.; Lu, H. S. Characterization, Formulation, and Stability of Neupogen® (Filgrastim), a Recombinant Human Granulocyte-Colony Stimulating Factor. *Formulation, Characterization, and Stability of Protein Drugs: Case Histories*; Pearlman, R., Wang, Y. J., Eds.; Plenum Press: NY, 1996; 9, 325.
25. Fatouros, A.; Osterberg, T.; Mikaelsson, M. Recombinant Factor VIII SQ: Influence of Oxygen, Metal Ions, pH and Ionic Strength on its Stability in Aqueous Solution. *Int. J. Pharm.* 1997, 155, 121—131.
26. Stadtman, E. R. Metal Ion Catalyzed Oxidation of Proteins: Biochemical Mechanism and Biological Consequences. *Free Radical Biol. Med.* 1990, 9, 315.
27. Munson, J. W.; Hussain, A.; Bilous, R. Precautionary Note for Use of Bisulfite in Pharmaceutical Formulations. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66 (12), 1775—1776.
28. Enever, R. P.; Po, A. L. W.; Shotton, E. Factors Influencing Decomposition Rate of Amitriptyline Hydrochloride in Aqueous Solution. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66 (8), 1087—1089.
29. Akers, M. J. Antioxidants in Pharmaceutical Products. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1982, 36 (5), 222—228.
30. Note for Guidance on Inclusion of Antioxidants and Antimicrobial Preservatives in Medicinal Products CPMP;

- January 1998.
31. Dabbah, R. The Use of Preservatives in Compendial Articles. *Pharmacoepial Forum* 1996, 22 (4), 2696.
32. Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 31st Ed.; Royal Pharmaceutical Society; London, 1996; 1128.
33. British Pharmaceutical Codex; Royal Pharmaceutical Society; London, 1973; 100.
34. USP <51> Antimicrobial Effectiveness Testing. United States Pharmacopeia; 24; US Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville, 2000, 1809.
35. Efficacy of Antimicrobial Preservation. European Pharmacopoeia, 3rd Ed.; Council of Europe; Strasbourg, 1997; 286.
36. Dabbah, R. Harmonization of Microbiological Methods-A Status Report. *Pharmacoepial Forum* 1997, 23 (6), 5334-5344.
37. Note for Guidance on Maximum Shelf-life for Sterile Products for Human Use After First Opening or Following Reconstitution; CPMP; July 1998.
38. Lam, X. M.; Costantino, H. R.; Overcashier, D. E.; Nguyen, T. H.; Hsu, C. C. Replacing Succinate with Glycolate Buffer Improves the Stability of Lyophilized Interferon- $\gamma$ . *Int. J. Pharm.* 1996, 142, 85-95.
39. Pikal M. The Correlation of Structural Relaxation Time With Pharmaceutical Stability Freeze-Drying of Pharmaceuticals and Biologicals Conference Brownsville VT Sept. 23-26 1998.
40. Arakawa, T.; Kita, Y.; Carpenter, J. F. Protein-Solvent Interactions in Pharmaceutical Formulations. *Pharm. Res.* 1991, 8 (3), 285-291.
41. Miller, D. P.; Anderson, R. E.; de Pablo, J. J. Stabilization of Lactate Dehydrogenase Following Freeze-Thawing and Vacuum-Drying in the Presence of Trehalose and Borate. *Pharm. Res.* 1998, 15 (8), 1215-1221.
42. Carpenter, J. F.; Crowe, J. H. Modes of Stabilization of a Protein by Organic Solutes During Desiccation. *Cryobiology* 1998, 25, 459-470.
43. Baumann, T. J.; Smythe, M. A.; Kaufmann, K.; Miloboszewski, Z.; O'Malley, J.; Fudge, R. P. Dissolution Times of Adriamycin and Adriamycin RDF. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1988, 45, 1667.
44. Jain, N. K.; Jain, S.; Singhai, A. K. Enhanced Solubilization and Formulation of an Aqueous Injection of Piroxicam. *Pharmazie* 1997, 52 (12), 942-946.
45. Meyer, J. D.; Manning, M. C. Hydrophobic Ion Pairing; Altering the Solubility Properties of Biomolecules. *Pharm. Res.* 1998, 15 (2), 188-192.
46. Wang, Y. J.; Dahl, T. C.; Leesman, G. D.; Monkhouse, D. C. Optimization of Autoclave Cycles and Selection of Formulation for Parenteral Product, Part II: Effect of Counter-Ion on pH and Stability of Diatrizoic Acid At Autoclave Temperatures. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1984, 38 (2), 72.
47. Japan Pharmaceutical Excipient Council, Eds. Japanese Pharmaceutical Excipients Directory 1996; Yakuji Nippon, Ltd.; Tokyo, 1996.
48. Excipients in Pharmaceutical Dosage Forms, The Challenge of the 21st Century Conference Proceedings Nice France May 14-15 1998.
49. Benzyl Alcohol. *Pharmacoepial Forum* Sept.-Oct. 1995, 21 (5), 1240.
50. USP <1078> Good Manufacturing Practices for Bulk Pharmaceutical Excipients. United States Pharmacopeia, 24 Ed.; US Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville, 2000; 2040.
51. Excipients in the Label and Package Leaflet of Medicinal Products for Human Use. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union; Guidelines; Medicinal Products for Human Use, European Commission; September 1997; 3B.
52. Note for Guidance on Development Pharmaceuticals Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP); July 1998.
53. Paul, W. L. Excipient Intake and Heavy Metals Limits. *Pharmacoepial Forum* 1995, 21 (6), 1629.
54. Aluminum in Large and Small Volume Parenterals Used in Total Parenteral Nutrition. *Federal Register* January 5 1998, 63 (2), 176-185.
55. Guideline on Validation of the Limulus Amebocyte Ly-sate Test as an End-Product Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products, and Medical Devices; Food & Drug Administration; December 1987.
56. Opalchenova, G. A. Comparison of the Microbial Limit Tests in the British, European, and United States Pharmacopoeias and Recommendation for Harmonization. *Pharmacoepial Forum* 1994, 20 (4), 7872-7877.
57. US Department of Health and Human Services. Morbidity and Mortality Weekly Report. August 2 1996, 45 (30), 649-650.
58. Weiner, M.; Bernstein, I. L. Adverse Reactions to Drug Formulation Agents; A Handbook of Excipients; Marcel Dekker, Inc.; New York NY, 1989.
59. USP <1074> Excipient Biological Safety Evaluation Guidelines. United States Pharmacopeia, 24 Ed.; US Pharmacopeial Convention Inc.; Rockville, 2000; 2037.
60. Note for Guidance on Minimizing the Risk of Transmitting Animal Spongiform Encephalopathy Agents Via Medicinal Products. CPMP; April 21, 1999.

61. The Sourcing and Processing of Gelatin to Reduce the Potential Risk Posed by Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) in FDA-Regulated Products for Human Use, Guidance for Industry, US Dept. of Health and Human Services, FDA, Sept. 1997.
62. Frank, D. W.; Gray, J. E.; Weaver, R. N. Cyclodextrin Nephrosis in the Rats. *Am. J. Pathol.* 1976, 83, 367.
63. Stella, V. J.; Rajewski, R. A. Cyclodextrins; Their Future in Drug Formulation and Delivery. *Pharm. Res.* 1997, 14 (5), 556—567.
64. Thompson, D. O. Cyclodextrins-Enabling Excipients; Their Present and Future Use in Pharmaceuticals; Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems. 1997, 14 (1), 1—104.
65. Loftsson, T.; Johannesson, H. R., *Die Pharmazie* 1994, 49, 292—293.
66. Lehner, S. J.; Muller, B. W.; Seydel, J. K. Effect of Hydroxylpropyl-Beta-Cyclodextrin on the Antimicrobial Action of Preservatives. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46, 186—191.
67. Felt, O.; Buri, P.; Gurny, R. Chitosan; A Unique Polysaccharide for Drug Delivery. *Drug Develop. Ind. Pharm.* 1998, 24 (11), 979—993.
68. Jain, R.; Shah, N. H.; Malick, A. W.; Rhodes, C. T. Controlled Drug Delivery by Biodegradable Poly (Ester) Devices; Different Preparative Approaches. *Drug Develop. Ind. Pharm.* 1998, 24 (8), 703—727.
69. Middleton, J. C.; Tipton, A. J. Synthetic Biodegradable Polymers as Medical Devices. *Med. Plastics Biomaterial* 1998, 5 (2).
70. Pettit, D. K.; Lawter, J. R.; Huang, W. J.; Pankey, S. C.; Nightlinger, N. S.; Lynch, D. H.; Schuh, J. A. C. L.; Morrissey, P. J.; Gombotz, W. R. Characterization of Poly (glycolide-co-D, L-lactide) /Poly (D, L-lactide) Microspheres for Controlled Release of GM-CSF. *Pharm. Res.* 1997, 14 (10), 1422—1430.
71. Katre, N. V.; Asherman, J.; Schaefer, H. Multivesicular Liposome (DepoFoam™) Technology for the Sustained Delivery of Insulin-Like Growth Factor-I. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87 (11), 1341—1346.
72. Wang, P.; Johnston, T. P. Sustained-Release Interleukin-2 Following Intramuscular Injection in Rats. *Int. J. Pharm.* 1995, 113 (1), 73—81.
73. Moghimi, S. M. Mechanisms Regulating Body Distribution of Nanospheres Conditioned with Pluronic and Tetronic Block Co-Polymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1995, 16, 183—193.
74. Zheng, J. Y.; Bosch, H. W. Sterile Filtration of Nano-Crystal™ Drug Formulations. *Drug Develop. Ind. Pharm.* 1997, 23 (11), 1087—1093.
75. Knepp, V. M.; Muchnik, A.; Oldmark, S.; Kalashnikova, L. Stability of Nonaqueous Suspension Formulations of Plasma Derived Factor IX and Recombinant Human Alpha Interferon at Elevated Temperatures. *Pharm. Res.* 1998, 15 (7), 1090—1095.
76. Sullivan, S. A.; Gilley, R. M.; Gibson, J. W.; Tipton, A. J. Delivery of Taxol and Other Antineoplastic Agents from a Novel System Based on Sucrose Acetate Isobutyrate. *Pharm. Res.* 1997, 12 (11), 291.
77. Gombotz, W. R.; Pettit, D. K. Biodegradable Polymers for Proteins and Peptide Drug Delivery. *Bioconjugate Chem.* 1995, 6, 332—351.

(賀 芬 译)

# F

## FDA: 药品管理者

Roger L. Williams

U. S. Pharmacopeia, Rockville, Maryland, U. S. A.

### 概述

公共健康与社会福利部 (DHHS) 是美国政府最大的管理部门之一, 2000 年财政年度预算 3950 亿美元, 拥有员工超过 61 000 名, 负责 11 个工作部门, 其中包括食品药品监督管理局 (FDA)<sup>[1]</sup>。虽然 FDA 的财政预算和员工数量相对较少 (2000 年财政年度预算 11 亿美元, 员工 9000 名), 但是 FDA 却有着广泛的影响并占据着权威地位。FDA 管理着美国市场大约 1 万亿美元的产品, 其中 25% 的产品是消费者每年都需要购买的, 大约 95 000 笔交易的产品受 FDA 管理。FDA 的工作是确保: ① 食品安全健康, 药品、兽药、生物制品和医疗器械安全有效, 化妆品以及放射产品安全; ② 药品管理公正、正确, 并且信息丰富; ③ 药品管理遵守 FDA 规章与指导, 找出不符合规范的地方, 促使其改正, 并且将任何不安全或非法的产品清除出市场。

食品药品专员由 DHHS 部长任命, 经美国参议院批准后, 领导 FDA 工作。专员办公室包括 8 个子办公室, 分别是: 首席顾问办公室, 均等机会办公室, 行政法官办公室, 资深准专员办公室, 国际和选民关系办公室, 政策、计划和立法办公室, 管理和系统办公室, 科学协调和交流办公室。除此以外, 专员办公室还管理 5 个中心, 负责机构的许多基本管理。分别为: 生物制品评价和研究中心 (CBER), 器械和辐射健康中心, 药品评价和研究中心 (CDER), 食品安全和应用营养中心, 国家毒理学研究中心。前三个中心管理多种治疗产品——药品、生物制品和器械对于治疗和预防人体疾病的有效性。食品药品专员也管理注册办公室, 后者负责 FDA 的执法活动, 监督超过 1100 名地区检察员的工作。

FDA 的工作繁琐复杂、具有挑战性、有科学根据, 并且不断调整以适应社会的需要和期望。本章通过仔细地研究分析, 在充分理解并坚持科学技术作为 FDA 工作基础的法律条件的基础上, 概述了 FDA 的这些工作。读者提及的许多文章与书籍<sup>[2a, 2b, 2c]</sup> 探讨了 FDA 的法规与管理要求。FDA 主页 <http://www.fda.gov> 同样提供了其他有用的信息。

### 立法

#### 1. 食品、药品及化妆品法规

FDA 的工作参照联邦食品、药品和化妆品法 (FFDCA)<sup>[3]</sup>, 公共健康服务法<sup>[4]</sup> 和其他法规<sup>[5]</sup> 来开展。虽然

FDA 原则上是食品药品管理机构, 但是在工作时, FDA 常会与其他联邦机构合作, 如环保局和农业部, 以及其他政府部门。FDA 食品药品规章可以追溯到大约 100 年前, 当时为了广泛关注美国的专利药品和食品的质量, 于 1906 年通过联邦食品药品法。该法规的重要理念, 直到今天依然在使用, 例如, 美国市场上买卖的食品药品不能假冒, 不能有会产生令人误解信息的未经证实的声明。1906 年后, 磺胺酞剂惨案的发生导致另一个主要的药品管理法规 FFDCA 于 1938 年颁布。该案例中由于使用赋形剂二甘醇溶解磺胺类药物磺胺, 使磺胺酞剂成为烈性肾毒素, 导致超过 100 名儿童与成人死亡。由于磺胺酞剂上市前未向 FDA 提供任何信息, 因此, 1938 法规建立了安全标准, 要求产品需要通过合理的方法进行足够的试验, 以确保其安全性。1938 法规的一个重要特征过去是, 现在是, 将来也是药品在上市前需要向 FDA 提供安全方面的信息, 并由权威机构确认提供的安全信息确实能够支持产品的安全性。1938 法规用通告代替了上市前批准。假如申请人在 60 天内未收到 FDA 的回音, 那么该产品就能上市。1938 法规同样建立了常规方法, 直到今天, FDA 几乎完全回应申请人提供的研究数据。FDA 很少为了提供管理意见而自己研究数据, 但是常常对未经批准和批准的产品进行取样分析。1938 法规还提出了其他直到今天依然可以使用的方法。例如, 某些治疗产品应该提供足够的使用说明、一些产品只有在有处方的情况下才能使用 (处方药)。处方药 (Rx) 和非处方药 (OTC) 的区别在 FFDCA 1951 年的《Durham-Humphrey 修正案》中有更详尽的描述。

1938 年后 FFDCA 经历了许多次主要修正, 其中最重要的一次修正是 1962 年因反应停事件而通过的《Kefauver-Harris 药品修正案》。这些修正建立了许多规范, 作为机构的现代药品规章的基础。建立上市前程序的法规使 FDA 能够在药品合法上市前判断该药品的安全性和有效性。法规也提出了研究中一些特殊新药申请的要求, 这些新药可未经批准进行流通和研究。为了证明新药的疗效, 法规建立了“疗效标准”, 要求申请人提供足够的有良好控制的疗效研究, 有力地证明药品的有效性。1962 法规还规定了药品生产必须遵守现行 GMP, 产品标签需要充分详细叙述药品信息。

除了 1938 法规和 1962 修正, FFDCA 还有其他许多重要的法规变化, 包括: 1972 年药品目录法 (建立了药品商业买卖的通知程序), 1976 年的医疗器械法 (根据危险程度将医疗器械分成 I 类、II 类和 III 类, 上市前批准针对第 III 类), 1984 年的药品价格竞争和专利期恢复法 (为奖励创新, 在延长专利期限与特有规定的同时, 允许销售等效的

仿制药), 1983 年罕见病药品法 (鼓励研究治疗罕见病的药), 1996 年药品出口法 (允许出口具有某些协定的未经批准的药品), 1987 年处方药销售法 (再次确保处方药能够在控制良好的渠道中销售); 1993 年仿制药品强制执行法 (对于有关 ANDA 申请的违法行为予以单独阻止), 处方药使用者费用法 (要求支付新药审核及类似申请和补充服务的费用, 以及每年的设定与产品费用) 以及 1994 年饮食补充剂保健和教育法 (建立了饮食补充剂的分类标准, 对于 1994 年以后上市的饮食补充剂建立了上市前通知程序)。FFDCA 最新的一次修正是 1997 年食品药品监督管理局现代化法 (FDAMA)<sup>[6,7]</sup>, 此次修正同样对公共健康服务法产生了影响。药品规章中的许多原则, 如 FFDCA 的规定, 已经引起了对社会性危害的发现与关注。相对地, FDAMA 提出了危害性的不同概念, 即 FDA 需要改革, 促进新药的有效性。此概念源于被过分限制的机构可能因为降低新治疗产品的药效而引起危害。FDAMA 特别关注改善 FDA 各方面的管理, 包括药品 (标题 I)、医疗器械 (标题 II)、食品 (标题 III) 和其他普通变更和要求 (标题 IV)。FDAMA 将许多先前 FDA 在规章或指南中始创的规则进行了法典化, 包括: ①管理药品与生物制品的方法一致; ②不再需要胰岛素生产证书; ③取消抗生素与药品的区别; ④流水化批准药品与抗生素生产变更; ⑤减少所需的环境评估; ⑥FDA 加速特定研究药品批准的程序。FDAMA 也将 FDA 允许临床研究作为某些情况下批准药品的依据进行了法典化, 同时也为合适且控制良好的研究保留了 1962 标准, 以证明药品的疗效。FDAMA 也改变了许多重要范畴的 FDA 政策, 包括在某些情况下允许药品公司传播标签未显示的经过同行评价的刊物文章, 允许药品公司向处方委员会、管理保健组织及卫生保健产品等类似的大客户提供关于其产品的经济信息。FDAMA 根据某些规定为药品的药房调配建立了特殊的模板, 以防止在调配的幌子下进行药品生产。

## 2. 公共健康服务法

公共健康服务法是联邦法律的又一个重要部分, 其中关于生物制品的规定, 甚至比 FFDCA 更早。在 12 名儿童死于劣质的白喉抗毒素后, 联邦法律于 1902 年要求生物制品必须持有许可证。目前 FDA 参照公共健康服务法进行管理。此法将生物制品定义为“病毒、治疗血清、毒素、抗生素、疫苗、血液、血液成分或衍生物、引起过敏的产品或类似产品或六零六及其衍生物, 能够预防、治疗或治愈疾病或改善人体状况的物体”, 生物制品一般来源于活的生物体。由于生物制品也被定义为“药品”和 (或) “医疗器械”, 所以需要遵守 FFDCA 对于掺假、冒牌与注册的规定。因为接受重组方式生产治疗产品而增加了 1902 法规的重要性。这些产品作为“类似产品”归入公共健康服务法中, 并且需要受到 CBER 管辖。FDA 的中心之间的协议也允许审核与批准在其他中心重组技术生产的药品和生物制品。

## 规章

FDA 根据规章执行 FFDCA 和公共健康服务法以及相关法律法规的法定规则。规章是指通常具有法律效力的标准, 能提供更加明确的信息, 商家或生产商应该遵守其中的操作规程, 并且根据法规向 FDA 提供信息。例如, 在提供了比较明确的关于制定适当且较好控制研究的规章中, 详细阐述了在 FFDCA1962 修正案中规定的适当且较好控制研究的条款。过去几十年 FDA 出版的其他重要规章包括: 1981 人类保护、患者知情同意、机构审查委员会 (阐明或建立对于已告知的要求和机构审查的要求, 保护参加受 FDA 管理的研究的人), 以及几个加快研究批准药品以治疗威胁生命的疾病的规章, 如 HIV 和癌症 (1987 年研究中新药的使用, 1988 年 E 部分药品的程序, 1992 年加速批准, 1992 年平行进程)。公共程序允许对此感兴趣的团体在 FDA 规章最后定稿以前, 查看 FDA 规章的初稿 (提议制定规章的公告) 和草案 (提议的规章) 并加以评论。联邦管理过程法管理全部过程, 包括机构对于公共评论的回应。FDA 规章在联邦法规 (CFR) 中出版并每年更新。

## 工业指南

FDA 以指导文件作为联系其管理的工业界的方法, 而公众则可自由选择遵守其中的全部管理法规与执行规章的方法。当指导文件经过多年并以多个名字生效, FDA 在 20 世纪 80 年代中期开始有规律地制订指南, 作为的三个阶段之一以努力改善 INA/ANDA 程序。指导文件帮助申请人理解申请的格式与内容, 工业界应该如何遵守管理指令、如何执行审查、如何遵守其他许多管理行为。指导文件的使用已经发展成为国际协调行为, 如人体药物注册技术要求国际协调会议 (ICH)、兽药国际协调会议以及国际医疗器械法规协调组织。为促进指导文件的制订、发行与使用, FDA 出版了 1997 优秀指导实践文件 (62FR 8967), 清晰明白地表明了指导文件的目的、定义、法律效应, 发展、标准原理、执行、传播的程序, 以及机构指导要求。作为其中的一部分, FDA 每半年出版下一年可能制订或修订的指导主题或文件, 并且听取公众对于现有指导文件 (63 FR 59317) 新增加或修订部分的评论。过去几年 FDA 出版了许多指南帮助申请人。虽然 FDA 指南并没有法律效力, 但是却表达了机构对于满足机构法规和管理要求所需信息的数量与类型的最佳判断。假如受管理的企业和商家希望使用 FDA 接受的其他方法, 那么就无需遵守指南的建议。与 1997FDAMA 法规的要求一样, FDA 将优秀指导实践文件变成了规章<sup>[8]</sup>。

## 审核人员指南

有一些 FDA 指南是以良好的审查规范文件的形式针对

## F

机构审查人员的,而大部分则是针对受管行业的。这些文件指导FDA审查人员如何对申请与补充申请进行高质量的、统一的、及时的审查。良好的审查规范文件可以看成是管理审查程序一系列质量控制的要素之一,审查程序包括采用第二和第三审查员对第一审查员的监督、审查模版、培训、内部标准操作程序以及其他首创的东西。优秀审查实践文件完善了机构指南,并且按机构优秀指导实践文件制订。虽然优秀审查实践文件和内标操作程序都与机构人员有关,但是文件也对受管理的工业有影响,并且也可用于提高机构功能对于药品申请人与整个公共的透明度。

## FDA 的药品管理

FFDCA将药品定义为“用于诊断、治愈、缓解、治疗、或预防人体或其他动物疾病的物品”以及“影响人体或其他动物的结构或功能的物品(除了食品)”。因此,如果食品、化妆品以及食品添加与医疗要求有关,那么FDA就认为其属于药品。FFDCA也定义药品为《美国药典》、《美国顺势疗法药典》、《国家处方集》或这些文件的补充中认可的物品。新药的概念在1938法规中被提及。FDA允许1938年以前在美国市场销售的“始祖”药物继续销售,只要此药物为公认的安全物质(GRAS)和公认的有效物质(GRAE)。在1938年和1962年法规颁布以后,所有新药在上市前都必须经过机构审查与批准。考虑到“新药”需要经过FDA几个中心审查,因此大部分新药信息,包括原创处方、仿制药和OTC药物,都须向CDER递交新药申请(NDA)或简要新药申请(ANDA)、补充申请及年度报告。因而下面的大部分讨论都与中心执行的新药规章有关。讨论的许多原理也同样适用于生物制品递交CDER[生产和分发生物制品必须有两张许可证——一是对产品本身(产品许可申请PLA),另一是对产品的生产设施(设施许可申请ELA)。其他只需要一个申请,称为生物制品许可申请,同时包括了产品与生产]。

## 药品研究与批准

新药的发现、研究、可能批准的管理评估与上市后的生产、分发和销售是一系列复杂行为,有着高度密集的资源。现代药物的发现与研究主要集中在药品企业的实验室、院校和政府研究中心。药品开发的失败比例很大,最早的用于实验研究和动物实验中的药物有数千种,但其中只有一小部分能够进行人体实验。早期发现和非临床动物研究的信息都需要递交研究中新药申请(IND)给机构。这部分管理过程依靠通知,所以如果机构在递交申请后的30天内没有给回音的话,申请人可以继续对人体临床研究。IND过程的规章收录于21CFR312和以后的机构指南中(如FDA指南目录和药物第一阶段研究IND格式,包括效果良好的治疗用生物技术衍生物<sup>[9]</sup>)。CDER每年收到大约1500份IND,大部分来自个体研究人。大约400份来自药

品研发生产商的商业用途。IND程序的一个重要方面在于保护人体实验者,应按照1981年的知情同意规定及机构审核委员会规定进行,对于很多已批准药物的临床研究也是如此。

填写完IND后,申请人进行非临床和临床研究确定研究中新药的安全性、疗效和质量。在NDA中收集这些研究的信息,递交FDA审查。这些研究包括新药重要的安全性、疗效和质量特征的描述。IND过程需要许多年,包括记录非临床与临床研究。这些研究经过一些不连续的阶段:第1阶段研究药物对于少数健康对象的安全性及药动学和药效学;接着研究药物对于患者的疗效(第2阶段,有时称为概念研究的证明);最后对大量的患者进行研究,进一步确认安全性证明疗效(第3阶段)。许多其他研究可以与这些主要研究一起进行以评定伴随药品的影响(药品交互作用研究)、生物利用度和生物等效性、人种影响和其他可能帮助专业人员、患者和消费者理解如何最好地使用新药的信息。药品需要遵守第一到第三阶段的顺序,但顺序并不是一成不变的。根据研究中药品的特征参数,如安全性、适应证及其他因素,常规的顺序可能要进行调整。

大部分NDA和ANDA由FDA的CDER批准。一年中,CDER中心要批准100份NDA,其中大约30%是以前从未批准过的原创新药(NME)。剩下的为范围拓展,例如,新剂型、新给药途径。另外,CDER每年批准数千份NDA的补充件,大部分是生产变更,也有许多是补充新用途(疗效补充)或安全信息。CDER也负责考虑所有NDA和ANDA要求的年度报告。CDER分为几个主要部分,共有审查人员大约1700人。其中最重要的部分之一是审查管理办公室,负责检查5个药物评价办公室的工作。这几个办公室轮流负责15个审查部门的工作,审查部门基本根据治疗组和药品级别划分组成。例如,心-肾药物部门审查用于治疗心血管和肾脏疾病药物的申请。审查管理办公室由生物统计学办公室和上市药品危险评估办公室组成。前一个办公室审查申请和补充中的统计分析,后一个负责上市药品的不良反应报告。CDER的另一个基础部门是制药科学办公室,负责新药化学、临床和生物制药办公室、检验和研究办公室以及仿制药办公室。CDER的行政和管理工作,包括涉及的一致性,都由中心处理。CDER与FDA的许多中心密切联系,包括CDER和CDRH,特别是管理事务办公室,负责确认药品生产符合现行GMP。CDER执行其他检查,确认符合良好实验室操作规范(GLP)和良好临床试验规范(GCP)。

### 1. IND 和 NDA

从科学技术的观点来看,对于IND过程最近几十年已经形成了良好的概念理解:IND过程最终获得安全有效、质量良好的新药。根据这一理解,药物(活性成分和非活性成分,如杂质、残留溶剂)和辅料组成药品,有明确的鉴别、剂量、质量、纯度和疗效。质量相关方面涉及药品性能。药品性能由药品质量生物利用度和相关生物利用度

(生物等效性) 研究做出评估。这些研究检测药品中活性成分的释药速度和程度, 以及对于一个或多个部位产生作用的有效性。在这些部位中, 活性成分和(或)活性成分代谢物产生安全有效的作用反映在产品标签上。在药物开发和注册中的安全性、有效性和质量问题可以通过一系列的疑问来表达(主要问题、解答问题的实验以及分析实验结果所需的信心), 这些疑问成为申请者 and 审核者双方相互理解的基础。从管理角度来看, 最先设置的问题经常陈述得很简单(新药是否有良好的质量? 是否安全? 是否有效?), 这些问题在 IND 期间促进非临床和临床特性的研究, 得到了一系列数据后在 NDA 中递交。假如需要, 根据管理部门的评估和批准, 这些特性研究最终会在产品标签上出现, 指导专业人员开处方药和患者或消费者购买非处方药。机构批准后, 申请人可以在全美市场生产、分发、做广告和销售经批准的新药。

递交 NDA 的文件包括 6 大技术部分: ①临床; ②药动学和生物利用度; ③化学、生产和控制; ④微生物; ⑤非临床药理学和毒理学; ⑥统计学。这其中一些部分的其他信息将主要在接下来的部分中探讨。更多详细信息在 FDA 管理文件、互联网和书面出版物中提供, 如 CDER 手册<sup>[10]</sup>和最新文件——《从试管到患者: 通过人体用药改善健康》<sup>[11]</sup>。

## 2. 临床信息

FDA 从 1962 年开始关注药品的疗效, 并且在规章中做了详细描述, 由 FDAMA 修改, 已经在《提供人体药物和生物制品效力的临床证据》的机构指南中做了详细讨论<sup>[12]</sup>。临床研究中得到的数据包括疗效数据, 是 NDA 的主要组成部分。这些数据由 FDA 审核人员进行判断, 以建立新药的一种或多种疗效的有效性。指南的核心设置在 ICH 中有许多发展, 也为建立有效性的临床研究提供了基本建议。另外, FDA 已经出版了许多指南, 提供临床试验设计方法、治疗终点和针对其他因素的建议, 以考虑安排特殊病症种类或药品级别的临床安全性和有效性研究。由于药品级别、治疗适应证和治疗需要, FDA 对于确定药物安全性和有效性所需的资料类型和数量有实质性的要求。为了支持新药的批准, 需要提交全面的、临床优越性的研究报告, 如病状减轻和死亡率降低。对于关键治疗需要的研究中新药。例如, FDA 可以根据替代品市场而不是临床优越性市场批准新药, 因为更多临床优越性信息可以在上市后获得。

与许多其他管理机构不同, FDA 鼓励在 IND 期间经常与申请人开会, 良好的信息沟通是 NDA 所需要的。在最终的分析中, 此信息必须使机构审查人员确信有合适的控制良好的研究提供坚实的证据来证明药品的有效性, 并且研究结果也显示药品在标签建议的使用条件下是安全的。总之, 新药的作用必须大于危险性。对于危险或有益的判断经常给申请人、FDA 和所有公众提出难题。假如药物能够在良好和自限的条件下使用, 低危险是可以容忍的。程度

较大的危险在药物用于治疗严重的或威胁生命的疾病时是可以被接受的。在药品批准期间和获得批准后, 许多机构法律规章都对新药的安全信息有要求。在 IND 阶段 FDA 的这些措施不仅是为了提供药物不良反应的信息, 而且是为了保护参与临床试验的人员的安全。药品获得批准后, 机构要求生产商和某些保健企业提供不良反应报告。FDA 开发了药物监测程序 (med watch program), 带有普通报告表格与联系点, 以方便保健人员和消费者报告严重不良反应。药物监测不仅指 CDER 管理的新药, 也指生物制品和医疗器械。安全性报告的信息可以写在药品标签上, 否则会影响新药对于专业人员和消费者的可获得性。一旦药品生产商和 FDA 认为药物的作用不再大于危险性的时候, 已获批准的新药会从市场上被召回, 不过这种情况还是比较罕见的。

## 3. 药动学和生物利用度研究

药动学和生物利用度研究以及其他临床药理学研究对于在 IND 期间完成的非临床和临床研究越来越重要。它提高了研究一段时间内人工体液中活性成分及其代谢物的能力, 还提高了根据剂量浓度或全身系统浓度, 研究相应响应部位的药物起效的时间进程(药效学)的能力。另外, 大部分研究中新药在进入临床试验时, 对疾病的病理学如何发生正面和负面的影响, 都要有一个较好的认知。这些研究的关注焦点和大众与个人对于摄入的最佳剂量的理解有关。临床药理信息帮助患者根据个人特点(如遗传多样性、年龄、性别、身高、人群和组成以及器官不良机能)和外部因素(如饮食、抽烟、喝酒、同时服用其他药物)调整给药方案, 根据这些因素调整给药方案越来越重要。例如, 最近几种药品(米贝地尔、特非那定、息斯敏、西沙必利)已经被从市场上收回, 以免造成危险的不良反应。在进行了许多年的包括人口分组研究和药品间相互作用研究在内的其他途径吸收、分布、新陈代谢、排泄(ADME)的药动学研究后, 最优剂量的药动学和药效学研究现在进行得越来越频繁。对于暴露-响应的良好理解也可以帮助判断安全性疗效数据的好坏。

## 4. 生物利用度(BA)和生物等效性(BE)

药品质量生物利用度和生物等效性研究也是支持 FDA 批准申请的重要信息<sup>[13]</sup>。大部分口服制剂, BA 和 BE 检测通常用全身暴露量来表示, 如血浆浓度-时间曲线(AUC)和最大浓度( $C_{max}$ )。这些全身暴露量的检测与安全性和疗效结果有关联, 这些结果根据生物标记、替代品终点或临床有益终点来表示。能够满足口服或其他药品的法规要求的研究在 FDA 指南《口服药品生物利用度和生物等效性研究——普通因素》中有更详细的描述<sup>[14]</sup>。生物利用度和生物等效性研究表明药品的性能是可靠的、一致的, 其重要性并不仅仅是作为新药批准过程的一部分, 而且是已批准药品的成分和生产方法的批准后变更过程的一部分。相对 BA 研究在比较不同剂型全身暴露曲线方面很有用。这种情

## F

况下, BA 的资料, 有时和药动学、药效学及其他数据一起, 用于比较两种不同剂型的效能, 并且确保有可比的临床效果。

## 5. 化学、生产和控制以及微生物

IND 期间, 申请人充分描述药品特点, 因此可以建立并控制药品重要的质量品质。需要注意的是: ① 药物, 确认活性成分的鉴别和强度, 控制因生产或降解产生的杂质; ② 药品, 确认活性成分的鉴别和强度, 监测因生产和储藏引起的降解物; ③ 容器-密闭系统, 保护储藏中的药品; ④ 稳定性试验, 保证货架期的药品质量; ⑤ 容器标签, 对于无菌产品, 需要特殊方法。完全理解成品制剂的生产过程也要求对过程中控制和生产用物料(即使在成品中不出现)质量进行理解和应用。申请人使用特性数据, 开发一系列规格以证明药品的鉴别、强度、质量、纯度和疗效, 并且允许成批放行产品进入市场。规格标准用实验列表来详细说明, 分析过程需经过实验确认, 并有合适的可接受限度。规格标准用于判断药物或药品满足可接受的用途。药物、药品和容器与密闭系统需要规格标准。中间体、原料、反应物和其他成分也需要有规格标准。规格标准是确保药物和药品产品质量和一致性的全部控制策略的一部分, 坚持现行 GMP 也是很重要的一部分。基于设置工艺的特性与规格标准, 开发药品的生产商将起始原料的质量和生产品信息编入成品制剂中。FDA 的化学家审查这些信息以确保关键质量性质能够得到控制。另外化学审查时也关注生产中控制和分析过程的验证, 而且对于无菌产品, 还关注工艺验证是否能确保无菌。药典中关于药物和辅料的专论以及美国药典和国家处方集(USP-NF)中的普通实验和程序经常在 NDA 中被引用, 并且在化学审查中被考虑。

## 6. 非临床药理学和毒理学研究

非临床动物安全性实验的目的是帮助评估人体用最小剂量和描述关于目标器官、响应部位、药物依赖性和副作用的毒性影响。一系列研究提供的信息关注单次用药和重复用药的毒性、再生毒性、遗传毒性、局部耐受性研究, 对于有特殊考虑或需长期服用的药品, 还要关注其致癌性。其他动物的非临床研究关注对于重要器官系统的安全性影响以及药动学(ADME)。非临床研究的时间对于保证临床研究最佳与最安全地进行也很重要。通过已有的一系列指南, ICH 提供非临床研究类型和所需时间的指南以帮助研究中制剂的临床研究, 以及已批准新药的产品标签。这些指导覆盖了以下的主题: 致癌性、生殖毒性、药动学、毒性、再生毒性、生物技术产品研究、药理安全性、非临床与临床试验的时间选择。由于这些信息有助于临床研究的开展, 因此将在报告中递交, 并且随 IND 过程进行更新。类似地, 这些信息在 NDA 中也有概括和分析。

## 7. 生物统计学

研究中药物的非临床与临床研究要求一系列有足够统

计分析的试探性和确证性研究。需要谨慎关注关于试验设计的许多方面, 以确保对于安全性和疗效没有偏见的可靠结论的作出。统计分析的重要原理在 FDA 指南中有讨论, 题目是“临床统计原则指南”<sup>[15]</sup>。

## 8. NDA 审核

NDA 信息审核根据法律规定的时间安排执行。这些时间安排根据药品是优先审核还是标准审核而有所不同。优先审核的药品因为有用的疗效, 其审核会被明显提前。FDA 承诺会在 6 个月内审核这些类型的药品。标准审核的药品描述为具有类似于某个已上市药品的治疗性质。FDA 承诺这类审核会在 10~12 个月之内进行。FDA 商议的结果将写在一封反应信中。假如递交的信息证明了新药的疗效和安全性, 那么 FDA 会给一封批准反应信, 允许申请的新药在美国销售。假如递交的信息未能证明新药的疗效和安全性, 那么 FDA 会给一封不批准反应信, 并且要求申请者提供更多的信息。假如补充的信息能令人满意, 那么这些信息将会对随后 FDA 给予批准信有所帮助。过去, 大约 60%~80% 的 NDA 被批准通过。也许是因为申请人能够更好地理解申请中关于建立安全性、疗效和质量的信息, 这个比例近年来还在上升。作为批准的一部分, FDA 可能要求申请人提供其他信息作为批准的一部分(第四阶段研究)。

为了帮助机构商讨, FDA 在 1964 年建立了一套咨询委员会体系。这些委员会审核数据, 提供机构是否批准申请或一些其他机构行为是否适当的建议。在 1972 年联邦咨询委员会法规下运行的机构咨询委员会, 已经经历了多次的调整。一些调整是因为 1992 年机构被要求由药品协会进行审核(相当于机构内部评估), 这次调整的一部分内容已经写入了 1997 年 FDAMA 法。机构现有的咨询委员会系统包括许多委员会, 开会讨论新药的安全性和疗效、已批准药品的新适应证, 特殊化学主题或不良反应事件的简介。FDA 咨询委员会只提出建议, 机构一般照做, 但有时情况也有例外。咨询委员会成员的选择是根据给予的主题而进行的, 包括消费者和工业代表。如果为了避免利益冲突, 可以将某一成员排除。假如个别成员的观点很重要, 那么就要根据特定的标准, 豁免其以允许参加。咨询委员会宪章必须由 DHHS 和普通服务管理局每两年更新一次。

在 NDA 批准后, 药品生产商可以宣传批准的新药并且做广告, 但是必须遵守 FFDCA 规定并执行规章。批准的申请可能需要补充新的安全性、功效或生产信息。

## 简略新药申请 (ANDA)

1984 年的药品价格战和 FFDCA 专利恢复修正案为批准已经在 NDA 过程中被批准安全性与疗效的仿制药建立了简短机制。修正案的规定和执行规章要求普通申请人证明其产品与对应的原创药(参考药)具有相同的活性中间体、强度、剂型和给药途径, 这些条款称为药物等效性条款。



除此以外, 申请人必须证明其提议的仿制药的标签与原创药是类似的, 并且仿制药与参考药的生物等效性相同。根据此方法, 对仿制药的广泛非临床和临床试验的要求常被取消。仿制药申请人递交 ANDA 信息给机构进行审核, 假如可以接受, 申请将被批准, 仿制药被认为在特定的使用条件下可与对应的参考药互换。作为 1984 年法规的一部分, 机构就专利证明和专有权制定了一系列要求。这些要求符合 1984 年法规的宗旨, 为了对社会需要低成本的仿制品及企业的创新动力加以平衡。

## OTC 药品

基于 1938FFDCA 和 1951Durham-Humphrey 法提出的区别, 新药分为处方药和非处方药 (OTC)。OTC 药品被认为消费者自用足够安全。FDA 对于新处方药和新非处方药的安全性和疗效使用了相同标准、两种管理。一种是通过专论系统, 另一种是通过将 NDA 批准的处方药转变为非处方药 (Rx 转变为 OTC)。提出 OTC 专论系统的原因是, 仅在 1938~1962 年间批准的新药就有数千种, 这些新药需要用文件证明其疗效。此项工作通过药品疗效安全执行 (DESI) 程序完成。作为成果的一部分, FDA 在 1972 年开创了 OTC 药品审核, 导致在 1938~1962 年之间关于 500 多种中间体的 100 多种专论的形成。这些中间体被用于上市的大约 700000 种不同制剂中。生产商可以销售这些种类的 OTC 产品, 而无需递交信息给 FDA。产品的生产与销售需要遵守专论和 USP-NF 物质和产品专题的条款。除此以外, 处方药批准后可以被认为能够安全有效地使用, 而无需专门的监控。FDA 允许处方药转变为非处方药, 无论是对于批准的新处方药还是新适应证。过去 5 年已经有过 66 次这样的转变。

## 《美国药典》

《美国药典》最早制定于 1820 年, 目的是为了促进治疗用品不掺假、合理命名、合适制备。USP1980 年开始收载信息, 以扩展正在建立的保健品标准, 提供有用的信息帮助医生、消费者和患者最理想地使用治疗产品。《联邦食品、药品与化妆品法》的第 201 节将《美国药典》和《国家处方集》(NF) 定义为法定标准。USP-NF 提供治疗产品与辅料符合《食品、药品与化妆品法》的质量标准。USP-NF 要求任何上市的药品名称必须与标准一致, 无论是否在 USP-NF 中有标明。根据《食品、药品与化妆品法》对于掺假和假冒的规定, FDA 能够处理药品不符合 USP 或 NF 的企业。字母“USP”或“NF”不能作为商标, 但是假如公司希望将其作为产品质量的表现, 那么可以用于非药品。药品生产商并非必须符合 USP 标准, 但是假如他们选择不符合, 那么其产品就要标上“非 USP”, 并且在容器标签上说明其产品有何不同。对于大部分生产商, 他们会选择遵守 USP 标准, 而不只是符合要求。

## 其他信息

FDA 在管理药品时会根据社会需求和迅速变化的科技、卫生带来的挑战, 不断进行调整与发展。同时还必须考虑国际机构和国际一体化, 找出管理焦点中哪些是可以弱化, 哪些是必须详细阐明的。所有 FDA 行为的关键是利用资源以允许法定功能的发挥。其中的一些问题将在接下来的章节中进行重点讨论。

### 1. 资源

1992 年以前, FDA 的资源来自于每年年初管理局和国会财政预算分配适当的税收资金。1992 年, 国会颁布《处方药使用者费用法》(PDUFA), 授权 FDA 向处方药企业收取费用来扩大 FDA 的适当资源。其他资源用于加速 NDA 和生物许可申请 (BLA) 的审核, 以使处方药产品能够更加快速地上市。最早的 PDUFA 程序, 称为 PDUFA I, 颁布后实行了 5 年。1997 年, 作为 FDAMA 的一部分 (标题 1/副标题 A——药品相关收费), PDUFA 再次被批准, 称为 PDUFA II, 实行了超过 5 年。PDUFA 包括了 FDA 的执行目标, 与 FDA 管理的改革相结合。通过对申请审核的收费, 机构中新药与生物制品审核部门增加了超过 900 名员工。1999 年, FDA 大约收到医药企业 1.25 亿美元。有了这些资源, CDER 和 CBER 通常能够达到甚至超过 PDUFA I 和 II 的工作目标。PDUFA II 增加了 FDA 的可得资源和工作目标, 例如, 2002 年 PDUFA II 中止时, 90% 2002 年提交的 NDA 和 BLA 申请都会在 FDA 收到后 10 个月内审核并执行。PDUFA 只为 NDA 的审核提供资源, 但中心的许多部门和程序也靠适当的拨款。机构近年来的拨款未有增加已经使得许多 FDA 中的非 PDUFA 部分 20 世纪 90 年代末期的资金比 90 年代初期要低得多。虽然 PDUFA 资源是有用的, 但只要新药审查的预算实质部分由医药行业提供, 消费者和其他一些群体就会特别关注审查时限和行业影响。尽管 FDA 提供的数据表明自从引入 PDUFA 以来, 市场召回频率有所降低<sup>[18]</sup>, 但是最近出现的市场召回又提高了人们对于这一问题的关注<sup>[16,17]</sup>。

### 2. 国际一体化

FDA 进行了许多国际行为, 例如, 信息交换、与世界卫生组织的密切合作以及不同类型的双边、三边和多边协调。其中最实质性的例子之一就是 ICH<sup>[19]</sup>。ICH 的初步目标是避免复制动物和人体试验以及就技术要求达成共识, 该技术要求有助于药品在 3 个 ICH 国家或地区 (包括欧盟、日本和美国) 中的注册过程。ICH 作为美国的 FDA 代表、欧洲委员会 (欧洲共同体委员会) 代表与日本健康福利部代表之间的合作努力, 始于 1989 年。ICH 是三方药品生产商联盟: 日本药品生产联盟, 美国药品研究与生产商, 欧洲联邦药品行业联盟。ICH 观察员包括来自世界卫生组织 (WHO) 的代表、欧洲自由贸易协会的代表和加拿大医疗

产品项目的代表。ICH 建立了筹划指导委员会, 每年召开两次会议, 地点选择在各个 ICH 地区, 提出关注全球一体化这一特殊主题的 ICH 专家工作组的疏漏。秘书处对 ICH 的支持是药品生产商协会国际联盟提供给筹划指导委员会两名代表。ICH 专家工作组关注疗效 (临床安全性和功效问题)、安全性 (非临床安全性)、质量和法规交流。ICH 建立了指南制定的流程, 首先确定需要协调的专题领域, 继而缩写相关文件, 收集背景信息, 组成专家工作组起草指南 (步骤 1), 即生成指南草案。指南草案通过多步修改, 若成功, 则形成最终指南, 成为欧盟、美国和日本管理机构的一部分 (步骤 2~5)。方法上, ICH 与 WTO 的指南有所不同, 无需联系管理机构。在最初 10 年, ICH 准备了超过 40 篇用于指导药品开发和在欧盟、日本、美国注册的指南与论文。最近 ICH 关注普通技术文件的建立, 在美国提供核心信息支持 NDA 或 BLA, 在欧洲和日本提供相关申请文件。在这最初的 10 年, ICH 面临了许多问题和挑战。比如 ICH 资源高度密集, 有时会排斥有权益的团体和股东。排斥问题通过 WHO 的努力得到解决, WHO 向成员国公布了 ICH 草案并且最终定稿了指导方针。另外, WHO 两年一次的药品管理机构国际协商会议上, 关于 ICH 的情况介绍已经成为越来越重要的程序。

### 3. 管理控制

任何社会的关键问题都是管理机构的责任范围。这个范围可以通过立法与行政、司法裁决、执法来加以限定。最近 10 年, 立法决定限制和阐明膳食补充剂和药品成分的管理两个重要部分中 FDA 的责任。1994 年以前, FDA 根据 1958 年的 FFDCA《食品添加物修正案》的规定管理膳食补充剂, 该规定要求所有新成分包括膳食补充剂都需要进行上市前的安全性审查。在 1994 年膳食补充剂健康与教育法 (DSHEA) 中, 国会在 FFDCA 增加一个条款, 不要求膳食补充剂和膳食补充剂成分提供上市前的安全性文件<sup>[20]</sup>。按照 1958 年法规, 对于新的食品成分或旧的食品成分的新用途, 这些要求仍然有效。DSHEA 和 1990 年营养标识教育法 (NLEA) 也拓宽了膳食补充剂的定义, 从维生素、矿物质和蛋白质, 到草药或类似营养物质以及人参、大蒜、鱼油、亚麻籽、酶、腺等物质和这些物质的混合物。特别复杂的是区别膳食补充剂和药品的法规。FFDAC 定义药品为用于诊断、治愈、缓解、治疗或预防人体或动物疾病的物品。如果产品能够影响人体或动物的结构和任何功能, 并且声明不是食品, 那么就应作为药品, 并遵守药品的规章。膳食补充剂的生产商可以声明产品对身体机构和功能有影响, 只要不做药品声明。FDA 已经尝试在产品标签上提供药品和食品声明的清晰区别。这项尝试反映了食品和药品宣传的界线, 与 FDA 在 NLEA 和 DSHEA 中责任范围的限度和阐述有关。这项区别目前由 FDA 规定——《关于影响人体结构或功能的膳食补充剂的陈述》中提供<sup>[21]</sup>。

FDAMA 第 127 部分增加了 FFDCA 第 503A 部分, 阐

明了药剂师或医生为各个患者配置的药品中药物成分的重要性。第 503A 部分详细说明了药品成分, 豁免 GMP、全公开的要求以及 FFDAC 的新药规定。如果想要符合这些豁免规定, 调配的药品必须满足第 127 部分的几个要求。第 127 部分最基本的目的是允许药剂师或医生合法地调配合药物, 解释调配药物与 FDA 监督下的药品生产的区别。

## 结语

防止或治疗疾病的药物是美国卫生保健系统的关键组成。美国卫生保健总费用超过 1 万亿, 其中医药产品大约是总费用的 8%, 希望未来能大幅提高卫生保健总费用与小部分医药产品费用。大部分医疗产品由 FDA 严密管理, 是新药到达患者手中的一系列复杂过程中的一项。通常, 这些过程以无联系的交叠的工作来考察, 包括药品研发、非临床与临床研究过程、注册评估以及应用。这四项中的每一项都会发生重大变化。随着分子生物学的发展, 对人体生理和病理状况的了解越来越详尽, 从而促进药物发现及相关的诊断和治疗技术的发展。分子模型与组合化学相结合, 对药物效应和生物药剂学特性进行高通量筛选, 已经发现了大量的先导候选物, 供非临床和临床开发。对于药物吸收、分布和作用的机制的更好理解, 可以提供药物安全性与有效性的更多信息。FDA 的管理审核过程变得更加及时, 一部分是因为收取使用人费用的结果, 药品申请人递交处方药 NDA 以及某些补充需要收费。

在医疗界, 药品在维持健康和治疗疾病方面的应用发生了深刻的变革, 这是诸多因素作用的结果, 包括控制医药费并确保患者接受最新的治疗手法的需要。信息技术、材料科学、管理以及其他领域的变革决定了在药品的发现、开发、评估和利用方面的改变。所有与研发医药产品有关的活动都受到了来自国内和国际社会以及政治因素的进一步的影响。有时这种影响非常大, 使得 FDA 在两种对抗性的力量影响下行使职能, 一方面要加速最新药品的上市, 另一方面要关注这些药品的安全性。药品产业全球化引发了对新药研发过程中统一法规规范和建议的需求。从国家政策方面来看, FDAMA (FDA 现代化法案) 通过了国会立法, 说明 FDA 加速了制定法规决策的步伐。使用者收费的实施使得 FDA 有了实现该目标的资源。由 FDAMA 和使用者收费产生的改变似乎代表了社会对于药品监管的想法的转变, 过去人们一直认为 FDA 的职能应该是看门人, 将不安全的药品和食品清理出市场。FDAMA 和使用者收费使 FDA 的着重点从监管已有的药品和其他产品转移了。这些发生于 20 世纪 90 年代的改变是多种因素的作用结果, 这些因素包括对 FDA 审批药物时间过长的长期指责、已有重要新药的数量增多、患 AIDS 和癌症等威胁人类生命的重要病患者人数的增加等。和所有社会倾向一样, 这些主张和力量可能会引起 FDA 管理方式的倒退。人们对药品的安全性和一些不安全的药物以及药物并用特定市场召回产生了担忧。有一项被 FDA 驳斥的指责<sup>[18]</sup>认为审批进程加

速导致了药品不安全性的出现。

### 参考文献

1. FDA Mission Statement, [http: //www/fda/gov](http://www/fda/gov).
- 2a. Cooper, R. M., Ed.; Food and Drug Law, 5th Ed. Food and Drug Law Institute; Washington, DC, 1991.
- 2b. Beers, D. O. Generic and Innovator Drugs—A Guide to FDA Approval Requirements; Aspen Law Business; New York, 1998.
- 2c. Temple, R. Development of Drug Law, Regulations, and Guidance in the United States. Principles of Pharmacology, Basic Concepts and Clinical Applications; Munson, P. L., Ed.; Ch. 113, Chapman & Hall; New York, 1996. Revised Reprint.
3. 21 U. S. C. Sections, 321—397.
4. 42 U. S. C Sections 241 (Research and Investigations), 242 (a) (Controlled Substances), 242l (International Cooperation), 262—263 (Biological Products), 264 (Interstate and Foreign Infectious Disease Control Functions that Relate to the Law Enforcement Functions of FDA) (1994). See also 21 C. F. R. 5. 10 (a), 1998.
5. Horton, L. Mutual Recognition Agreements and Harmonization. Seton Hall Law Rev. 1998, 29, 692—735; Orphan Drug Act of 1983, Pub. L. No. 97—414, 96 Stat. 2049, 1983; Drug Price Competition and Patent Term Restoration Act of 1994, Pub. L. No. 98—417, 98 Stat. 1585, 1984; Food Drug Modernization Act of 1997, Pub. L. No. 105—115, 111 Stat. 2296, 1997.
6. Pub. L. No. 105—115, 111 Stat., 2296—1997.
7. FDAMA and Related Document, [http: //www.fda.gov/opacom/7modact.html](http://www.fda.gov/opacom/7modact.html).
8. Federal Register 2000, 65 (30) .
9. [http: //www.fda.gov/cder/guidance](http://www.fda.gov/cder/guidance).
10. [http: //www.fda.gov/cder/handbook/index.htm](http://www.fda.gov/cder/handbook/index.htm).
11. [http: //www.fda.gov/cder/about/whatwedo/testtube.pdf](http://www.fda.gov/cder/about/whatwedo/testtube.pdf).
12. [http: //www.fda.gov/cder/guidance-clinical/medical](http://www.fda.gov/cder/guidance-clinical/medical) .
13. 21 Code of Federal Regulations 320.
14. [http: //www.fda.gov/cder/guidance/biopharmaceutics](http://www.fda.gov/cder/guidance/biopharmaceutics).
15. [http: //www.fda.gov/cder/guidance/91698](http://www.fda.gov/cder/guidance/91698).
16. Withdrawals of FDA-Approved Drugs Raise Questions. Mayo Clin. Health Letter 1998, 16 (4) .
17. Kleinke, J. D.; Gottlieb, S. Is FDA Approving Drugs Too Fast. BMJ 1998, 70, 405—406.
18. Friedman, M. A.; Woodcock, J.; Lumpkin, M. M.; Shuren, J. E.; Hass, A. E.; Thompson, L. J. The Safety of Newly Approved Medicines—Do Recent Market Removals Mean There is a Problem? JAMA 1999, 281, 1728—1734.
19. ICH information, [http: //www.ifpma.org/ich1.html](http://www.ifpma.org/ich1.html).
20. A Summary of The Dietary Health Supplement and Education Act is Available. [http: //vm.cfsan.fda.gov/dms/dietsupp.html](http://vm.cfsan.fda.gov/dms/dietsupp.html).
21. 21 CFR 101, Federal Register, 2000, 65 (4), 1000—1050.

(傅民译)

# G

## 干粉吸入剂

Lynn Van Campen

Geraldine Venthoye

Inhale Therapeutic Systems, Inc., San Carlos, California, U.S.A.

## 引言

历史上肺部给药一直以控制呼吸道局部疾病为目标,然而中央呼吸道也可以像肺深部一样作为药物沉降的合适靶部位。目前上市的用于治疗哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)和支气管炎的吸入产品大都是这样的。然而,现在以肺、特别肺深部的肺泡表面,作为无法口服的药物的全身用药部位,引起了高度的重视。因为肺部给药是非侵害性的,具有替代注射给药的潜力,其治疗目标实质上已被拓宽。将足够小的颗粒或小液滴输送到肺周边或肺深部的肺部给药系统正在得到迅速发展,以满足这些新的治疗目标。

肺部给药为下面三种给药方法之一:雾化剂(nebulizer)、定量吸入剂(MDI)或干粉吸入剂(DPI)。药物的性质及其治疗目标可能显示哪一种肺部给药的剂型更合适。例如,雾化剂要求药物在水性溶媒中有适宜的溶解度,以方便给药;MDI中的药物必须以适当浓度很好溶解于或混悬于非水性的抛射剂中,通常在小于100 $\mu$ L体积中的浓度要满足给药剂量要求;对于DPI,药物的物理性质决定了制备工艺能制得稳定粉末的难易程度,该粉末通过吸入装置能有效地将毫克剂量雾化,进行肺部给药。

### 1. 雾化剂

雾化剂在肺部给药中有着悠久的历史。虽然通常有效,传统的雾化剂体系需要较长的用药时间(10~20min),在此期间采用外部动力实现药物溶液的低效率给药。具有携带方便和给药定量优点的手持型系统目前正在开发之中<sup>[1]</sup>。取决于药物的溶解度和剂量,这些系统可能需要多次启动以输出有效剂量。

### 2. 定量吸入剂

自从20世纪70年代以来,MDI一直主宰吸入给药的市场,尤其在美国。MDI比雾化剂使用更方便,通常每个便携罐提供100~300个确定剂量。然而,其疗效可靠性的局限在于,需要患者的吸气与MDI启动相协调<sup>[2]</sup>。抛射剂气流驱使药物在喉壁上而非肺部沉降。然而,在80年代后期,MDI中的氟氯碳化物(CFC)抛射剂被确认为消耗臭氧层的物质,这导致工业范围内的进一步研究替换CFC的更环保的抛射剂。

### 3. 干粉吸入剂

MDI重新设计处方的技术挑战引起人们对采用DPI技

术开发新产品潜力的兴趣持续增加,以满足类似治疗、市场和环保的需要。

DPI装置将药物以干粉形式由患者经口吸入到达肺组织。其给药系统应有助于生成非常细小的药物颗粒,以避免撞击屏障。该屏障是防止有害颗粒的可能侵入,肺的正常功能中设置的撞击屏障,包括口腔咽喉及为肺深部给药必须通过的导气的支气管和细支气管。

研究已显示要避免口腔咽喉部的碰撞,颗粒的空气动力学直径小于5 $\mu$ m是必要的<sup>[3,4]</sup>。只有空气动力学直径小于3 $\mu$ m的颗粒才会到达末梢支气管和肺泡<sup>[5]</sup>。因此,给药系统所要产生的颗粒直径,在很大程度上取决于目标肺组织。肺沉降也受患者特定的吸入动力的影响,这又会受到药装置的影响。本文从材料的特性到最终产品的性能各个方面,说明干粉吸入产品的特点。

概念比实施更简单,DPI技术正在迅速发展以满足更广泛的治疗需要和市场需求。理想的DPI体系的特性包括下面大多数或全部的特性:

- 简单及使用舒适。
- 结构紧凑且生产成本低。
- 生成细颗粒的剂量重现性好。
- 输出剂量重现性好。
- 干粉的物理及化学性质稳定。
- 肺外剂量损失最小化,口腔咽喉部沉降量、装置滞留量和呼出量小。
- 属多剂量给药系统。
- 干粉能避免外环境的影响,能在各种气候中使用,并能避免呼出湿气的不良作用。
- 不会产生剂量过量。
- 数字显示已用剂量和(或)剩余剂量。

### 4. 概要

细干粉颗粒可用多种方法生产,如微粉化或喷雾干燥。通常这些细颗粒的物理化学性质决定了粉体的稳定性,反过来,对于干粉产品长期的有效性极为关键。“细颗粒与固体状态”一节是对其基本性质更好理解的介绍,这是决定粉体行为的基础。关于生产细粉的各种方法将在“干粉生产、处方和生产工艺”一节中介绍。

DPI中的药物有两种,单剂量和储库型。单剂量包装在生产时已确定一定剂量,储库型在使用时定剂量。一些装置为了方便储备了多个单剂量。这些将在“灌装与包装”一节中介绍。考虑到产生雾化干粉的各种方法的装置设计史及功能性背景,下一节介绍“装置:干粉雾化制剂”,将

充分考虑不同设计的优点及不足之处。

“性能和法规要求”描述研究各种干粉雾化剂特性的方法,提供关于产品质量的功能要求及这些属性必须在注册申请中怎样反映出来。

“DPI在治疗中的作用”简单介绍了影响 DPI 药物治疗行为的因素。文章结语为“DPI: 萌芽工业”,它调查了 1999 市场上的 DPI 产品情况,并选择介绍了已明确在开发之中的产品。在文章中总结了 DPI 剂型在未来治疗应用中的潜力。

## 细颗粒及其固体状态

### 1. 晶体和无定形体(玻璃态)

药物固体性质通常分为晶体或无定形体(或玻璃态)。事实上,药物处方中真正的固相通常是由晶体和无定形体共同组成的。在一个由多种成分构成的体系中,例如,含有药物及辅料的固体制剂,其中某些成分或者单一成分可能是无定形体,因为物料是无定形体总是较不稳定,与晶体形式相比是高能形式,晶体和无定形体之间的区别与固体的热力学稳定性有关。

晶体物质以三维长排序体可转变为一个清晰的独特的分子模式,可用 X 射线衍射(XRD)加以表征<sup>[6]</sup>。玻璃态的分子排列类似于液体的状态,并缺乏三维空间排序。因此,经典的玻璃体又被称为无定形体,即没有结构。用于制备 DPI 的制剂工艺,例如,磨粉、喷雾干燥和冻干法,生产具有无定形体特性的物料<sup>[7]</sup>。

晶体物料的磨粉,由于在加工期间包括摩擦、变形、削减和凝聚发生重要的机械活化,引入或增加了无定形体特性<sup>[8]</sup>。由磨粉过程产生的无序程度或无定形体特性取决于物料表现及其内在对抗磨粉的应力、加工过程给予的能量和能量释放的时间跨度。从液相中形成的固体颗粒,如溶液的喷雾干燥或冻干,大多是无定形体物料。

晶体物料有一个变为液体的特征性的熔点,然而无定形体物料没有特定的转变点。无定形体物料在加热时在较狭的温度范围内(通常称为玻璃化转变温度或  $T_g$ )从脆的玻璃体变为橡胶体的状态。无定形体物料的黏度和分子的可移动性等特性在接近  $T_g$  时发生数量级的变化,这些特性在接近  $T_g$  时所表现出的温度依赖性是非 Arrhenius 的<sup>[9]</sup>。玻璃体到橡胶体的转变也与热容量的阶梯式变化相关,因此,无定形体物料  $T_g$  可以用差示扫描量热计测定,即在样品受热期间测定热流的阶梯式变化(相应于热容量的变化)<sup>[10]</sup>。对很多亲水性药物和辅料,水作为增塑剂增加了分子的流动性,并降低玻璃化转变温度。少至 2%~3% (w/w) 的水使  $T_g$  降低 30~40℃ 极为常见。玻璃体物料的物理化学稳定性由于可移动性增加在接近  $T_g$  时降低。因此,水的存在促使其不稳定。当储藏温度接近  $T_g$  及内含水量增加,混合物从无定形状态转换为晶体的速度将会同样地增加<sup>[11,12]</sup>。

### 2. 物理状态对干粉制剂稳定性的影响

DPI 制剂物理性质的轻微改变能导致雾化行为的显著改变,因为制剂中亲水性成分吸湿会导致表面溶解及颗粒之间的液体桥接。这又导致晶体生长,颗粒融合和粒径增大,从而造成雾化性能的严重丧失<sup>[13]</sup>。在单剂量或储库灌装,以及产品运输时振动引起的粉末稠化,也会影响到干粉雾化性能。

因为在固体状态其分子具有较大的可移动性,与其晶体相比,无定形体系列在任何指定温度下通常表现出较不稳定的物理、化学性质。因此, DPI 制剂最好制成晶体状态。在目前上市的 DPI 产品中,药物的低相对分子质量也支持其晶体性。自从 20 世纪 80 年代后期,对生物来源药物给药的兴趣一直在增加,例如,蛋白质的全身性吸收。这些分子典型的不容易形成晶体,而保持为无定形体。在用于肺部给药的冷冻干燥与喷雾干燥的生物产品中,辅料作为保护剂,例如,糖也必须是无定形体,可与蛋白质互相影响和(或)在蛋白质分子周围提供一个刚性的基质,限制其运动并保持稳定。像其他任何无定形体产品,储藏温度远在  $T_g$  以下,在加工和储藏期间防止吸湿,其物理变化可最小化。

无定形体制剂的化学稳定性通常也是由储藏温度与  $T_g$  的差异决定。到达玻璃体转变温度时,分子运动性的升高转变为扩散依赖性的降解途径,例如,蛋白质的聚集。应该认识到接近  $T_g$  时的反应动力学不服从 Arrhenius 动力学,而且在储藏温度接近  $T_g$  时产生的加速稳定性数据的推断应该高度谨慎。无定形体物料储存必须远在玻璃体转变点之下(至少在  $T_g$  以下 10℃,通常  $T_g$  以下 40~50℃),以维持其物理、化学稳定性。

当加工部分晶体物料,例如,由磨粉生产的产品,要重视吸水的影响。无定形体成分与晶体相比,倾向于吸收更多量的水分,导致  $T_g$  降低,增加分子的运动性,以及其物理的和化学的不稳定性。

### 3. 粉体的性质

可吸入的 DPI 干粉的特性不能仅研究单个粒子而表征,必须评价粉体的性质,因为其性质决定了生产的难易,并影响全身用药的功效。初级的粉体特性包括粒径大小及分布、粉体密度和表面积。这些性质,连同粒子静电、外形、表面的形态学等一起,影响第二级粉体的特性,如粉末流动、加工、固化及可分散性。

含药的初级颗粒大小和颗粒大小分布的表征及控制也许是用于吸入干粉设计和生产的最重要因素。一个颗粒的质大小、密度和外形决定其空气动力学行为,也决定了它最可能沉降的肺区域。平均的或中位的(占 50% 的百分点)颗粒大小可能基于颗粒数量、颗粒质量(或体积),或甚至颗粒的表面积。颗粒大小分布描述的是在一个样品中的颗粒大小分布范围或频率或在一个样品中的颗粒大小分布的宽度。由于抽样误差,这些颗粒大小参数的变化在表征混

合粉末、长期储存粉末或机械活化的粉末时必须考虑。

质量中间直径 (mass median diameter, MMD) 是描述初级颗粒的最常用指标, 并可通过过筛或离心沉积测定。体积中间直径, 如用激光衍射法测定的值, 可作为 MMD 的近似值, 只要颗粒密度已知, 不随大小改变, 且颗粒形状近似球形。粉末的 MMD 可由下面的公式预测其空气动力学的直径:

$$\text{MMAD} = \text{MMD} \cdot \rho_{\text{true}}^{1/2}$$

式中: MMAD 为空气动力学质量中间直径;  $\rho_{\text{true}}$  为颗粒的真实密度, 通常由氮测相对密度确定。颗粒之间内聚/黏附常造成 MMAD 比预测要大。要促进空气输送颗粒经过喉部转运, 并沉降在肺内, 一般认为 MMAD 值小于  $5\mu\text{m}$  是必须的。要输送到肺深部的粉末, 例如, 治疗哮喘或肺的全身性用药, 需要由 MMAD 反映的空气动力学值为  $1 \sim 3\mu\text{m}$ <sup>[14]</sup>。颗粒 MMAD 小于  $0.5\mu\text{m}$  易于被呼出。

表面积是粉体的特性, 直接取决于颗粒的大小分布、多孔性和形态学, 它通常由氮吸附法确定。将吸附等温线数据拟合成一个适当的数学模型, 就可得出表面积。如果粒径分布足够窄, 且颗粒无空洞或非多孔性, 表面积可以表示颗粒的平均皱纹或形状的变化程度。表面积在细颗粒生产 (气流粉碎或喷雾干燥) 中监测工艺控制上, 可能比颗粒大小测定技术更为敏感。

粉体的密度、多孔性和固化速率被视为粉体结构和流动性的特性。由于微粒之间高度的相互作用造成桥接结构形成, 通常使得细粉比粗糙颗粒的测定更加困难。这些力必须通过引入能量加以克服, 例如, 超声波震动或机械震动, 使微粉化的粉末可控地流动。基于载体的干粉制剂的设计部分在于克服微粉化的颗粒的内在黏结。在这些制剂中, 微粉化的药物黏附在较大的载体颗粒上, 改善了干粉流动性及定量性能。为了有效给药, 在雾化时和 (或) 吸入时药物颗粒必须从其载体上分离开。

制粒工艺常用来改善微粉的流动性。制粒使单个颗粒通过颗粒之间弱的固体连接形成较大的聚集体。这一过程导致粉体密度 ( $\rho_{\text{bulk}}$ ) 的增加。制粒过程中形成的固体连接有助粉末的流动及定量, 但在雾化时必须消除<sup>[15]</sup>。

粉体密度必须与颗粒的真实密度清楚地分开。粉体密度只是粉末床的质量除以其体积。粉末床的体积包括聚集体之间的空间、初级颗粒之间的空间和颗粒内部微孔的体积。这些在粉末床中的空隙总称为粉末的孔隙率。粉末孔隙率 ( $F$ ) 的计算公式是

$$F = (1 - \rho_{\text{true}} / \rho_{\text{bulk}})$$

颗粒之间接触点的平均数随粉体密度的增加而增加, 这些接触点的颗粒间作用力在产生分散雾时必须克服。因此, 低粉体密度的粉末比同样的高粉体密度的粉末在雾化分散时更容易。

然而, 低密度的粉体比高密度的粉体可能更容易固结。干粉固结可视为颗粒的密度增加或颗粒包装的过程。在干粉填充或产品运输产生的振动时会非常快速地发生固结, 甚至经受难以感知的振动时, 即干粉在似乎是静态的储藏

期时也会随时间产生固结。固结的速率和程度取决于颗粒大小分布和颗粒外形, 并且能用来描述粉末结构的动力学行为。干粉固结的程度, 或可压性, 可通过测量振动密度来评价, 使用以下关系式:

$$\text{可压性}\% = [100 \times (\rho_{\text{tap}} - \rho_{\text{aerated}}) / \rho_{\text{tap}}]\%$$

式中:  $\rho_{\text{tap}}$  是振实密度, 而  $\rho_{\text{aerated}}$  是空气堆密度。

理解生产过程中 (如混合时) 粉末的表现, 可能有助于最佳充填和包装工艺的确定。混合的粉末在发生固结时也可能会有活性颗粒从载体颗粒上分离。虽然分离会导致药物含量的均一性差, 事实上, 在由药物与较大载体颗粒混合的干粉雾化中, 这正是所期望的。

## 干粉生产: 处方和工艺

影响 DPI 干粉生产的首要因素是生产的物料必须能渗透入肺。细颗粒的生产有难度, 尤其是在重现性方面。这一挑战导致了主要依赖于药物特性的控制细颗粒生产的各种方法的开发。在后面描述的工艺中, 微粉化与混合, 以及更新的喷雾干燥特别常用。

一旦生产出来, 小颗粒面临着新的问题。对于小直径颗粒, 重力不再是对颗粒发挥主要作用的力, 而颗粒之间的力更加突显出来。颗粒增加的内聚和相聚的特性会导致一些问题, 例如, 流动性不良、填充不良和分散不良。这些问题通常通过与较大的、不易内聚的辅料, 例如, 乳糖颗粒的混合或药物自身制粒而加以最小化。颗粒的内聚特性可以通过修饰颗粒表面而减弱, 这正是数种正在出现的技术的目标。

二级加工技术常常用于干粉生产, 以保证生产的药品的稳定性。这些主要技术将稍后给予更详细介绍。

### 1. 处方

吸入用的干粉处方必须依赖于为数不多的辅料——稀释剂、稳定剂、增溶剂、工艺助剂与特性改良剂 (如长效助流剂), 以发挥其作用。在美国只批准少数的物料用于吸入产品, 而其中 (如抛射剂、表面活性剂) 大多数在干粉制剂中的用得很少。

只要剂量需要和药物特性许可, 药物可在没有任何的辅料的情况下加工, 例如, Astra 公司的 Pulmicort Turbuhaler。然而, 大多数上市的或在开发之中的 DPI 依赖添加乳糖作为填充剂和助流剂 (见混合)。限于产品开发的专利性, 在未来不知有何种附加的辅料会出现, 并安全地用于吸入剂。然而, 有可能因全身给药的吸入技术的发展, 将会使通常是注射剂中的糖、缓冲盐和其他辅料加入到可接受的吸入辅料目录中。

### 2. 控制结晶或析出

结晶或析出, 是指从物料在适当的溶剂中的溶液生成颗粒的过程。对此过程的控制水平决定着生产的颗粒的物理特性及大小。大多数药物原料的生产是在生产工艺的最

后一步进行结晶。形成稳定的晶体物料正常情况下是最后一步的目标。

然而,在用于 DPI 产品的物料生产中,晶体产品的颗粒常常太大。随后的颗粒变小是必须的,而且可能显著改变物料的物理特性<sup>[16]</sup>。

### 3. 微粉化

微粉化是高能的颗粒变小技术,能使大直径颗粒转变为直径小于  $5\mu\text{m}$  的颗粒。有不同类型的设备可用于颗粒的微粉化,例如,气流粉碎或流体磨粉机和球磨机。虽然不同的器械有不同的操作参数,使颗粒变小的基本方法是一样的。所有的技术包括对颗粒施加外力,典型的是碰撞形式,要么是颗粒与颗粒,要么是颗粒与设备之间。外力作用破坏晶体表面的完整性,引起颗粒间裂隙扩张。随着颗粒变小,表面不完整的颗粒数减少,因此使颗粒变小的任务就更困难。微粉化技术在过去 50 年中一直应用于生产用于吸入治疗的微小颗粒中。然而,近几年来才解决了与此技术关联的批与批之重复性及稳定性问题。批与批之差异可能由起始物料的形态差异引起,因此,具有可用的重复性的原料供应非常关键。稳定性问题通常源于微粉化产生的物料颗粒表面无定形体数量的差异的改变<sup>[17]</sup>。这可通过对微粉化过程的认真控制而降至最低,包括加工条件、批量及加料速度或增加二级加工过程。此外,微粉化能引起一些物料的分解<sup>[18]</sup>。与微粉化有关的问题正在促使许多公司研究生产小颗粒的其他可能的方法。

### 4. 混合

改善内聚性小颗粒的流动性、填充性和分散性的常用方法是将药物与辅料混合在一起,最常用的辅料是粒径较大的乳糖颗粒。通常辅料粒径大于  $60\mu\text{m}$ ,而药物颗粒小于  $5\mu\text{m}$ 。混合的目的是生产有序的干粉,使小颗粒附在较大“载体”颗粒的表面。其难度在于要保证药物和载体之间的附着力足够强,在混合和产品储藏期间不会分离,同时又足够弱,当雾化时允许药物颗粒从载体的表面分离<sup>[19,20]</sup>。在处方可行性研究时,采用研体和杵和(或)翻转混合器中的几何混合进行混合。大量生产时,该工艺通常采用高剪切的混合器。

DPI 中混合干粉的最终表现取决于特定的药物和载体特性,以及其混合的工艺<sup>[21,22]</sup>。在载体形态方面的小改变可导致患者用药剂量的显著改变<sup>[16]</sup>。再者,原料供给的控制对产品的成功开发至关重要。另外,二次加工可能是必需的,以确保每一批载体颗粒行为的一致性。混合成品的运输或储藏的步骤应该密切监视,以避免分离,分离会在药物与载体分开时或不同大小载体分开时发生。细心选择处方和加工设备可使药物与载体的分离最小化。例如,料斗设计在减少分离方面起关键作用。

### 5. 制粒

制粒经常不需要使用辅料,可为混合高剂量治疗药物

提供途径。制粒过程包括细药物物料的有意制团,成为内聚较弱的、比较大的单位<sup>[23]</sup>。制粒通常以震动筛或翻滚干粉的操作完成,所有过程需要特别注意确保产品一致性的时间和能量参数。最终的颗粒必须能通过给药装置解聚成适当大小的颗粒,以便于雾化给药<sup>[15]</sup>。

### 6. 二次加工

如前所述,干粉吸入剂物料主要为结晶状态,具有不同程度的无定形性。这主要是源于高能磨粉过程,在晶体物料里产生无定形体物料的区域。然而,有时也会发生相反的情况。将任何随时间的变化最小化,并确定物料在最后的包装之前物理性质稳定是制剂的主要难点。这些稳定性问题在本质上讲是物理性质的,但是有时候也有化学变化,例如,杂质的形成等。

用于减少碾细产品的结晶性变化的技术是除去产品中的水分或其他溶剂,通常把物料装在适当的密封层里(如铝箔中)。其他技术,包括生产 100% 晶体物料,也能消除湿气的影响。然而,此技术可能需要二次的生产处理阶段或密封阶段,使产品在受控的储藏条件下达到平衡。

最后用合适的准确的稳定性数据评价结晶影响,如 6 个月在  $40^\circ\text{C}/75\%$  相对湿度(RH)的加速稳定性试验。这似乎是过度了,但是结晶度测定本身就很困难,因为其分析灵敏度较低(例如,无定形体成分低于 5wt%),而且纯单相标准品难以制备,继而较难测定。

### 7. 喷雾干燥

喷雾干燥工艺通常用于生产较大的(接近  $500\mu\text{m}$ )食物、药物和工业用粉剂,也可用于制备 DPI 干粉所需的微粒<sup>[13,24-26]</sup>。通常第一步制备辅料和药物的溶液,溶解辅料和主药,使所有辅料和主药在最终干粉中分布均匀,而不是不均质的干粉混合。如果料液由有机溶剂组成,则将溶液喷成雾状,并与干燥媒介(通常是空气或一种惰性气体)混合,溶剂蒸发后剩下药物固体。

每个喷雾干燥液滴形成一个颗粒,其大小由液滴大小、料液中的固体和固体颗粒的密度决定。对于给定的处方及制备工艺,固体含量和粉末密度批内和批间都是不变的。因此,初级颗粒大小的分布由液滴的大小分布决定。一个分布狭窄的颗粒可以通过设计完善且控制良好的喷雾加工参数来制得。

在喷雾干燥机中液滴的停留时间相当短(以秒计),使对热敏感成分的降解最小化。除此之外,因为溶剂蒸发的冷却效应,药物暴露于比入口温度低很多的环境中。控制液滴停留时间和较低的温度决定了无定形体与晶体的物料性质。

喷雾干燥机由进料箱、旋转或喷嘴雾化机、空气加热器、干燥室和分离干粉的旋风分离器组成。旋转的雾化器利用离心形成液滴,加压的喷嘴雾化器在压力下将料液送到喷嘴,形成液滴。两个进液喷嘴分别将料液输入同一个雾化器,能产生高速细雾使溶液分离成微小的液滴。料液

和干燥空气以标准的平行流送入干燥室<sup>[27]</sup>。

## 8. 冻干法

尽管冻干法相对昂贵，但对相对不稳定的化合物可能是一个好的工艺。在冻干过程中，溶剂（通常是水）被冻结，接着在真空环境中被升华除去。整个的过程中保持低温，使药物避免因热降解。

通常干燥过程可分为第一阶段和第二阶段两步。在第一阶段，将药物溶液注入小瓶内，然后置于一个控温的干燥室中，在此，溶液依照物理化学原理，当搁板温度降到凝固点以下时冻结，接着搁板温度升高，但维持在冰点以下，之后室内抽真空使溶剂升华。此阶段的干燥过程可除去大部分溶剂（50%~80%）。

在第二阶段干燥时，剩余溶剂在升高的但仍低于冰点的温度下除去。在冻结时，过冷是必需的，以促进药物的结晶。化合物过冷的程度依赖于其特性、搁板温度程序、容器的热传递性质及溶液中的微粒。过冷程度决定了溶剂形成晶体的大小，即第一阶段干燥形成的孔道大小。因此，过冷的程度影响升华的速度、第二阶段干燥的速度及成品的表面积。第二次干燥的目标是使产品中的水分含量最小化。

因此，要达到预期目的，选择一个冷却温度曲线至关重要。目的是可以实现均匀的过冷和冻结，或增加一个老化过程使得溶质结晶或冰晶生长。老化时间长，更易获得固态特性理想的粉末。

然后，冻干的块必须要碾细。与由喷雾干燥制得的颗粒相比，磨细的冻干粉末的颗粒大小，通常分布范围较宽。尽管通过冻干法制备干粉末需要较长的加工时间，这一工艺使得配方设计师能较好地控制固态的粉末。

## 9. 超临界流体技术

用超临界流体技术萃取，特别是二氧化碳和丙烷，作为控制吸入制剂颗粒的大小和形态的方法，目前正在研究

之中。超临界流体是处于临界压力和温度之上的液体<sup>[28]</sup>。在这些条件下，分子显示流动、极性和普通液体的溶解性能，但具有气体特征的扩散能力和反应性。

料液雾化并得到颗粒有两种方法：①含有已溶解的药物的超临界溶液的迅速膨胀；②反溶媒气体的重结晶，对含有溶解药物的另一种易混合的或部分易混合的小液滴（如乙醇、甲醇和丙酮），超临界流体作为反溶媒发挥作用。

第二种技术，有时描述为 SEDS（超临界流体的增溶分散），已成功地用于吸入剂，实现中试规模生产。与喷雾干燥相同，此技术是单一步骤的工艺。药物物料必须在助溶剂中具有溶解性，但必须在超临界的二氧化碳里完全不溶。最终的无溶剂颗粒不像微粉化物料，因高结晶性不易内聚，导致电荷作用的降低<sup>[29]</sup>。据报道，这些干粉颗粒大小分布狭窄，有较小的平均空气动力学直径（ $<2.5\mu\text{m}$ ）。此外，获得了这些热力学稳定干粉的规则的颗粒形态，适合进一步的加工和处理<sup>[30]</sup>。

## 填充与包装

当开发用于定剂量给药的干粉包装系统时，首先要考虑的是能给予患者正确的剂量。对于 DPI 药物粉末，一些基本问题必须考虑，特别是药物通常必须小体积给药，由于颗粒小，常常很难处理。

在开发用于干粉的包装系统时，面临的重大难题是保持粉末在包装中的分散性，压缩和带电对其会产生影响。药物干粉的压缩，可能是过度加工的结果，可造成不需要的药物浓度的增高。药物小颗粒在带电状态下也易于变形，这可能是颗粒相对于颗粒和包装设备的运动，及药物粉末意外吸收水分的结果。

包装剂量的确定可由称量或定体积完成。开发用于 DPI 的粉末制成每一给药单位能给出特定剂量的药物干粉。药物粉末可制成单剂量包装或储库多剂量系列，两者都有其优势（表 1）。

表 1 用于 DPI 药物制剂的主要包装

剂量系列	优点	缺点
单剂量	较简单，装置价廉，不易产生故障 当作为雾化剂给患者用药时，干粉得到保护	患者在使用前必须操作，将单剂量包装装进装置； 剂量调整限于厂商提供的药物剂量（类似于药丸）
多剂量	更方便于患者	因为装载多剂量使得装置变得更复杂，及需显示剩下剂量数 由于挤压或不正确指导，装置更易产生故障
储库	多次剂量和剂量调整易于实现。 方便，不必担心独立的单剂量泡罩	储库系列开启后，干粉通常不能得到保护； 物理及化学的特性可随时间变差； 微生物污染问题； 剂量定量由装置完成，增加装置复杂性，在用药时因为干粉的物理特性时常不知，定量时常不能满意控制





1. 单剂量系统

单剂量系统将已知剂量的药物包装成单个的包装。患者可使用单一或多个单位的药物以达到所需剂量。单剂量系统的最大好处是生产上的控制程度更高，药物单剂量可用质量或体积确定。虽然质量定量的准确性更高，但其生产过程较慢，因此，单剂量包装更普遍的是使用体积定量。

虽然用体积定量对大规模生产来说是可靠的方法，但对药物干粉的分散性来说有缺点，继而会影响给药剂量的准确性和精密性。分散性既可通过设计填充过程以优化干粉流动来解决（这将根据药物的不同而不同），也可通过减少加工和药物干粉的压缩而控制，还可通过减少药物颗粒之间及药物颗粒对填充设备间的运动而解决。减少药物干粉的运功可减少颗粒的静电、相应的设备功能缺陷和包装问题，其包括用药时定量困难和颗粒分散等。

单剂量系列一般采用泡罩包装或含药胶囊，供给药装置将其分散。泡罩包装比胶囊更为适宜，因为含铝结构通常不透湿气，内衬聚氯乙烯或聚丙烯，可以封闭。明胶胶囊在室温下通常大约含有 12% 水分，这对于未在环境的相对湿度下平衡的干粉是潜在的水分来源。

2. 储库系统

储库系列具有提供不同剂量的优点，产生较少量的废物，生产成本低，且比单剂量系列使用方便。由于依赖于装置内的定量系统，在用药时可能较不精确。因为药物储库要重复使用，在控制湿度上难度更大。维持系统中药物干粉的高流动性也给药剂学提出了一个较大的难题。

装置：形成干粉雾化剂

1. 设计目标及规则

肺部给药装置的最终目标是在肺组织上重复性地沉降所需量的药物。许多因素影响特定 DPI 设计的选择，包括所输送药物的特性、干粉处方及其有关的治疗方案。其他

必须考虑的因素包括药费、所需的剂量、市场因素和预期的患者依从性。

在用药中和常规装置中丢失的药物量决定了装置的经济可行性，而药费在其中起着重要作用。用药剂量和副作用可能决定颗粒大小的重现性范围和对有效治疗必需的给药量。用药的目标组织决定形成极小颗粒的重要性，上呼吸道的局部给药可能允许比全身吸收的肺深部给药颗粒大。干粉颗粒内聚性可决定装置生成一定大小的颗粒所需要的能量。治疗方案和诸多市场因素，如方便性与其他可用药物和（或）治疗的费用，决定装置的便携性或廉价性。所期望的患者依从性使得在技术选择时偏向一些技术。

DPI 不能仅仅视为装置，也必须视为大的给药系统的构成部分，包括药物干粉处方，其生产过程及包装。

2. 功能描述

在过去的 30 年中已设计、开发了多个 DPI，并成功上市，虽然这些装置在特性和操作上的差异很大，但它们都可完成一些基本的功能。DPI 必须能从药物粉体包装中输出需要的剂量，通过对干粉的解聚效应生成的药物颗粒的细雾，并用空气稀释，把药雾送入患者的呼吸道。

3. 药物干粉的包装

一个装置在给药时的头等任务是从药物包装中输出一一定剂量。如前面的介绍，有两种基本方法可用：①多个剂量可能储存在干粉库中；②每个剂量作为单剂量可单独包装。储库系统本来就是多剂量。对于单剂量系列，需要在吸入前将单剂量包装的药物单独装入装置，或装入多个单剂量。

4. 能量来源

从药物包装中输出干粉、产生颗粒细雾及用空气稀释等均需要能量的输入。在历史上，此能量来自患者的吸入动力（表 2）。在某些情形中，用于输出及干粉定量的能量来自患者对装置的机械操作<sup>[31,32]</sup>。较新的设计借用 MDI 工业概念或含有其他技术的新方法。

表 2 给药的能量来源

患者吸入		其他（空气泵、定量抛射剂、电动、其他）	
缺点	优点	优点	缺点
不需要协调药雾的生成与患者的呼吸	给药、分散性能及剂量受到患者以适当的高速气流吸入能力的影响	摆脱了药雾生成与患者用药正确吸入操作能力的关联	因为增加了部件的数量，而增加了装置的复杂性及成本
装置通常很简单，在干粉解聚过程中没有活动部分		因为在使用过程中应用另外的能量，允许更内聚性干粉的输出及解聚	

4.1 不受控的与按需的雾化剂生成

依赖于患者吸入的 DPI 装置是内在需求性的，即只有

患者吸入才产生雾化剂的给药。对比之下，MDI 是内在不受患者控制的，而患者的呼吸调整必须细心与雾化剂的产生同步以给予有效的剂量（表 3）。

表3 雾化剂的生成控制

不受控的		按患者需求的	
缺点	优点	优点	缺点
装置简单；不需反馈系统来监视患者	更易于被患者误用	当患者有效吸入时就实现给药	因为需要反馈系统，装置更复杂
允许大量药雾的生成，允许短时间内对干粉输送大量能量	在形成与患者吸入之间通常需要暂留室储存药雾，导致装置形体较大	有较好的剂量控制	对干粉给予的能量必须很好控制
装置易于损坏			

非依赖于患者吸入动力的 DPI 装置，可能与 MDI 面临相似问题。装置启动雾化剂的生成，接下去的就是不受控的。提供干粉给药能量的另外途径可通过操纵装置及基于监视患者的吸入练习加以控制。表 3 给出两种方法的一些优点和不足。

是也必须生成细雾以便人能吸入适当剂量。这两个要求时常难以同时达到。细干粉容易内聚且流动性不良，与载体混合、制粒及其他方法已用于克服这些局限性。从 DPI 装置方面比较了混合干粉和同质干粉的应用，见表 4。

## 5. 同质干粉与混合干粉

干粉必须易于从打开的胶囊或者干粉储库中流出，但

表4 干粉性能对装置设计的影响

混合干粉（乳糖载体）		同质干粉	
缺点	优点	优点	缺点
干粉易于从包装中取出	因为载体颗粒沉在口腔与咽喉部，在给药时可能引起咳嗽及其他不适感觉	口与喉部的沉降很少；患者感受不到所吸入的雾化药	处方工艺在产品开发中成为关键要素；要输送的化合物的特性决定了最终干粉的性能
载体的应用通常使分散更容易	需要输送和分散大量的干粉；从能量需要的角度，均匀分散被增加的有效负荷抵消		

## DPI 的性能与法规要求

### 1. 性能特点

两个重要指标表明了 DPI 的性能：给药剂量的均一性和颗粒大小分布的空气动力学的评价。要测定肺部给药剂量的均一性，要使用一套能定量保留给出剂量的仪器。对于颗粒大小的空气动力学评价，可应用多级液体撞击器或

圆盘碰撞。所有雾化功能测试必须在特定的温度和湿度下进行。

### 2. 性能指标

目前美国、欧洲与英国药典具体说明了给药剂量均一性的不同需求。表 5 详述了这些具体要求及 FDA（食品药品监督管理局）所希望的目标<sup>[33]</sup>。日本药典没有说明给药剂量均一性的要求。目前的法规可作参考。

表5 产品质量要求

药典	第一阶段测验 (N=10)	第二阶段测试 (再加 20 个)
美国	不超过 1 个超过标示量的 75.0%~125.0% 无超过标示量的 65.0%~135.0%；若 2~3 超过 75.0%~125.0%，无超过标示量的 65.0%~135.0%，进行第二阶段测试	不超过 3 个超出标示量的 75.0%~125.0%，无超过标示量的 65.0%~135.0%

续表

药典	第一阶段测试 (N=10)	第二阶段测试 (再加 20 个)
英国	不超过 1 个超过平均值的 75%~125% 无超过平均值的 65%~135%, 若 2~3 个超过 75%~125%, 无超过 65%~135%, 进行第二阶段测试	不超过 3 个超出平均值的 75%~125%, 无超过平均值的 65%~135%
欧洲	不超过 1 个超过平均值的 65%~135%; 无超过平均值的 50%~150% 若 2~3 个超过 65%~135%, 无超过 50%~150%, 进行第二阶段测试	不超过 3 个超出平均值的 65%~135%, 无超过平均值的 50%~150%
FDA 推荐 <sup>1)</sup>	不超过 1 个超过标示量的 80%~120% 无超过标示量的 75%~12%; 若 2~3 个超过 80%~120%, 无超过标示量的 75%~125%, 进行第二阶段测试	不超过 3 个超出标示量的 80%~120%, 无超过标示量的 75%~125%
日本	无吸入剂量均匀度的要求	N/A

1) 来自文献 [30]。

四部药典中,《美国药典》(USP)对给药的剂量均一性要求最严格。虽然《英国药典》(BP)允许相同的性能范围,USP指定标示的范围内,而BP指定平均值的一个范围内。FDA期望的给药剂量均一性比目前所有的药典阐述更严谨。

各个药典描述了颗粒大小分布的空气动力学评价的适当的方法。USP定义颗粒大小分布经过空气动力学质量中间直径(MMAD)及几何标准差(GSD)。无药典规定颗粒大小的要求。然而,指定的颗粒大小指标与产品的预期应用相适应。例如,如果颗粒要到达肺深部,离开装置的颗粒MMAD应该小于5 $\mu$ m。通常,雾化剂的MMAD越小,沉降在肺部的量越大。

两个出自FDA的趋势会影响颗粒大小分布的空气动力学评价与报告,首先是确定来自单一或单剂量的颗粒大小分布,这在某些情况下,因为每一阶段的活性成分量可能只是痕量存在,这可能又提出一个分析难题。第二是对每个阶段的撞击器或层叠碰撞制定出药物量的具体要求。

## 释放性及稳定性试验的参数

干粉的各种特性可用释放性和稳定性来评价。这包括物理特性,例如,粉末的外观、内含物料的均一性、给药剂量的一致性、颗粒大小分布等;可被评价的化学特性包括药物含量、纯度、鉴别及粉末中的水分含量等。粉末也可进行显微检查,以发现异物微粒、异常结块和颗粒大小。也应检查微生物限度,包括总需氧菌、酵母及菌落计数,应排除特殊病原体的出现。也可将粉末溶解测定其pH水平。此外,也应测定含量和给药剂量的一致性法定要求。

USP与欧洲药典(EP)建议总需氧菌计数不超过100 cfu/g,总酵母菌落计数不超过10 cfu/g,及不得有特殊病原体。其他特性的具体要求应以预期的应用和产品一贯的特性为基础。正如其他的剂型,具体要求必须满足整个产品储存期的要求。

在国际协调会议(ICH)上,已规定室温储存的稳定性实验和测试间隔,建议干粉应储存在25℃和60%RH作为实际条件;在40℃和75%RH作为加速条件以及如果有重大变化,30℃和60%RH作为加速条件进行测试。ICH建议,测试第一年每3个月检测样品一次,第二年每个6月及其后每年检测样品一次。除了这些需求,FDA提议如果有重大变化,25℃和75%RH的储藏条件作为加速观察条件。在新药申请(NDA)时需要提交6个月的数据,而研究必须满1年。

当提交NDA后,FDA要求收集真实条件下12个月的数据和加速条件下6个月的数据。如果在6月加速条件下有重大变化,必须提交于30℃和60%RH条件下的6个月的数据,且研究必须满1年。

## DPI在治疗中的地位

为开发疗效相当的可替代治疗产品,有人做过关于同一药的DPI和MDI的直接比较。吸入给药系列的治疗作用取决于患者,也取决于产品本身。因此,通常需要临床可比性的说明以支持产品替换。

吸入干粉雾化剂的沉积模式可受到患者吸入动力和肺解剖结构的巨大影响。在高速吸入气流时,一些特定颗粒会有更大的倾向碰撞咽喉的壁或沉积在上呼吸道。对于需要高速气流分散的干粉颗粒的给药系统,肺深部沉积较少。装置设计的衍生部分是不管何种动力源,使剂量变化最小<sup>[34]</sup>。

药物在肺沉降的目标因所考虑的治疗用途而变化,在哮喘的治疗中使用的 $\beta$ 受体激动剂,主呼吸道通常是用药目标。另一方面,要想治疗肺泡疾病、COPD或者全身性用药,必须到达肺深部的外周区域。

肺部给药的药动学优势有起效快速、无首过效应等,与肺部口服给药用于局部治疗相比,肺部给药效果增加10~20倍,且显著减少了副作用。

在一项研究中,三种不同的丙酸氟替卡松产品,一种MDI和两种DPI产品(Diskhaler与Diskus)在健康的志愿者和患者中进行直接比较<sup>[35]</sup>。全身的生物利用度最高的是MDI,而两种DPIs有类似的药物生物利用度。药动学研究结果与体外评价一致,MDI给出了最高质量的细颗粒剂量(FPD),而两种DPIs有类似的FPD值。还有报告在健康的志愿者的独立研究中显示,一个用非氯氟甲烷制剂的药动学与用于丙酸氟替卡松MDI的原氯氟甲烷制剂相似。Diskhaler和Diskus的药动学结果相似,同时其临床性能在

儿童和成人中也相似<sup>[36,37]</sup>。

## DPI: 萌芽工业

第一个上市的DPI系统于1949年出现,由Abbott开发上市,命名为Aerohaler。与所有的已存在的肺部给药方法一样,它向呼吸道给出的药物的小分子化合物(支气管扩张剂或吸入皮质类固醇)(不必到肺深部)治疗哮喘或COPD。表6列出一些早期的DPI系统及其基本特性。

表6 最早的干粉吸入剂系统

上市年份	品名	厂商	适应证	包装/定量	能量来源	混合
1949	Aerohaler	Abbott	哮喘, COPD	单剂量, “筛子” 盘	机械, 患者吸气	否
1971	Spinhaler	Fisons (现在为 Aventis)	哮喘, COPD	单剂量, 大型硬胶囊	机械, 患者吸气	是
1977	Rotahaler	Allen 和 Hanburys (现在 Glaxo)	哮喘, COPD	单剂量, 硬胶囊	机械, 患者吸气	是
1988	Turbuhaler	Astra	哮喘, COPD	储库式	机械, 患者吸气	否
	Diskhaler	Allen 和 Hanburys (现在 Glaxo)	哮喘, COPD	多剂量囊泡	机械, 患者吸气	是
	Inhalator	Boehringer-Ingelheim	哮喘, COPD	单剂量, 硬胶囊	机械, 患者吸气	是

表7展示了DPI领域中一些较新的品种,多数还是着重于局部治疗呼吸道疾病的小分子药物的给药,用于治哮

喘或COPD,但有一些是大分子的全身性给药,尚在临床试用之中,例如胰岛素肺深部给药。

表7 最近的干粉吸入系统<sup>1)</sup>

品名	厂商	包装/定量	能量源
Pulvinal	Chiesi	储库式	机械, 患者吸气
Easyhaler	Orion	储库式	机械, 患者吸气
Clickhaler	ML Labs	储库式	机械, 患者吸气
Discus	Claxo	多剂量囊泡	机械, 患者吸气
Monohaler	Astra	单剂量	机械, 患者吸气
AIR <sup>2)</sup>	Alkermes	单剂量	机械, 患者吸气
Spiros <sup>2)</sup>	Dura	多剂量囊泡	机械, 非患者吸气驱动
Inhance <sup>TM</sup> Pulmonary Delivery System	Ihhale	单剂量	机械, 非患者吸气驱动

1) 本表不完整,很多美国和欧洲公司也开发干粉吸入剂;

2) 在临床试验,还未上市。

由吸入治疗公司和Alkermes公司在开发之中的新DPI技术是实现肺深部大分子的给药。引领这一领域的是其吸入胰岛素产品,目前正在与Pfizer进行III期的试验之中。在未来几年中,干粉吸入剂预计将会成为广泛接受的和有效的多种治疗药物的给药方法,如抗生素、镇痛药、抗体、激素、蛋白质,或许也有基因治疗剂的给药方法,这一技术的潜力还要继续探索。

## 参考文献

1. Steed, K. P.; Freund, B.; Zierenberg, B.; Newman, S. P. Proceedings of Drug Delivery to the Lungs VI London UK, 1995; 14-15.
2. Crompton, G. K. The Adult Patients' Difficulties with Inhalers. Lung 1990, 659-662.
3. Stahlhofen, W.; Gebhart, J.; Heyder, J. Experimental Determination of the Regional Deposition of Aerosol Par-

- ticles in the Human Respiratory Tract. *J. Am. Int. Hyg. Assoc. J.* 1980, 41, 385–398.
4. Byron, P. R. Pulmonary Targeting with Aerosols. *Pharm. Tech.* 1987, 11, 42–56.
  5. Wong, D. Y. T.; Wright, P.; Aulton, M. E. Influence of Drug Particle Size on the Performance of Dry Powder Inhalations of Nedocromil Sodium. *Proceedings of the 14th Pharmaceutical Technology Conference, Barcelona, Spain, 1995*, 3, 86–108.
  6. Ford, J. L.; Timmins, P. *Pharmaceutical Thermal Analysis, Techniques And Applications*; Ellis Horwood: Chichester, UK, 1989.
  7. Elamin, A. Effect of Milling and Spray Drying on Water Interactions and Physicochemical Properties of Pharmaceutical Materials; Uppsala University: Sweden, 1994.
  8. Sebhatu, T.; Angberg, M.; Ahlneck, C. Assessment of the Degree of Disorder in Crystalline Solids by Isothermal Microcalorimetry. *Int. J. Pharm.* 1994, 104, 135–144.
  9. Oksanen, C. A.; Zografi, G. The Relationship Between the Glass Transition Temperature and Water Vapour Absorption by Polyvinyl Pyrrolidone. *Pharm. Res.* 1990, 7, 654–657.
  10. Saleki-Gerhardt, A.; Ahlneck, C.; Zografi, G. Assessment of Disorder in Crystalline Solids. *Int. J. Pharm.* 1994, 101, 237–247.
  11. Hancock, B. C.; Zografi, G. The Relationship Between the Glass Transition Temperature and the Water Content of Amorphous Pharmaceutical Solids. *Pharm. Res.* 1994, 11, 471–477.
  12. Hancock, B. C.; Shamblin, S. L.; Zografi, G. Molecular Mobility of Amorphous Pharmaceutical Solids below their Glass Transition Temperatures. *Pharm. Res.* 1995, 12, 799–806.
  13. Venthoye, M. G. Characterization of an Amorphous Dry Powder Aerosol System; Ph. D. Thesis, London University, 1997.
  14. Curry, S. H.; Taylor, A. J.; Evans, S. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1995, 2, 267–270.
  15. Wetterlin, K. L. Design and Function of the Turbuhaler®. A New Concept in Inhalation Therapy; Newman, S. P., Moren, F., Crompton, G. K., Eds.; Medicom; Amsterdam, 1987, 85–89.
  16. Kassem, N. M. Generation of Deeply Inspirable Clouds From Dry Powder Mixtures; Ph. D. Thesis, University of London, 1990.
  17. Ward, G. H.; Schultz, R. K. Process-Induced Crystallinity Changes in Albuterol Sulphate and its Effect on Powder Physical Stability. *Pharm. Res.* 1995, 12, 773–779.
  18. Rogerson, C. The Design and Production of Microparticles for Inhalation. *Proceedings of Recent Advances in Dry Powder Inhalers*. London, 1996.
  19. Moren, F. In Vitro and In Vivo Performance of Powder Inhalers, *Proceedings of Respiratory Drug Delivery II* Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1990.
  20. Zanen, P.; Van Spiegel, P. I.; Van der Kolk, H.; Tushnizen, E.; Enthoven, R. The Effect of Inhalation Flow on the Performance of a Dry Powder Inhalation System. *Int. J. Pharm.* 1992, 81, 199–203.
  21. Kassem, N. M.; Ho, K. K. L.; Ganderton, D. The Effect of Air Flow and Carrier Size on the Characteristics of an Inspirable Cloud. *J. Pharm. Pharmacol.* 1989, 41 (Suppl), 14p.
  22. Ganderton, D.; Kassem, N. Dry Powder Inhalers. *Adv. Pharm. Sci.* 1992, 6, 165–191.
  23. Bell, J. H. Pelletised Medicament Formulations, Fisons Patent, Application No. 152047, 1975.
  24. Vidgren, M. T.; Vidgren, P. A.; Paronen, T. P. Comparison of Physical and Inhalation Properties of Spraydried and Mechanically Micronised Disodium Cromoglycate. *Int. J. Pharm.* 1987, 35, 139–144.
  25. Chawla, A. Spray-Dried Powders For Use In Dry Powder Aerosol Formulation; Ph. D. Thesis, University of London, 1993.
  26. Chawla, A.; Taylor, K. M. G.; Newton, J. M.; Johnson, M. C. R. Production of Spraydried Salbutamol Sulphate for Use in Dry Powder Aerosol Formulation. *Int. J. Pharm.* 1994, 108, 233–240.
  27. Masters, K. Longman Scientific and Technical. *Spray Drying Handbook*, 5th Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1991.
  28. Phillips, E. M.; Stella, V. J. Rapid Expansion from Supercritical Solutions; Application to Pharmaceutical Processes. *Int. J. Pharm.* 1993, 94, 1–10.
  29. York, P. Solid-State Properties of Powders in the Formulation and Processing of Solid Dosage Forms. *Int. J. Pharm.* 1983, 14, 1–28.
  30. York, P. New Approaches to the Preparation of Particles for Inhalation. *Proceedings of Recent Advances in Dry Powder Inhalers*. London, 1996.
  31. Schultz, R. K.; Miller, N. C.; Smith, D. K.; Ross, D. L. Powder Aerosols with Auxiliary Means of Dispersion. *J. Biopharm. Sci.* 1992, 3, 115–122.
  32. Hill, M. Characteristics of An Active Multiple Dose Dry Powder Inhaler, *Proceedings of Respiratory Drug Delivery. IV* Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1994; 109–116.
  33. Guidance for Industry. Metered Dose Inhaler (MDI) and Dry Powder Inhaler (DPI) Drug Products, Chemistry,

G

- Manufacturing, and Controls Documentation Draft, U. S. Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services, Rockville, MD, October 1998.
34. Timsina, M. P.; Martin, G. P.; Marriott, C.; Gander-ton, D.; Yianneskis, M. Drug Delivery to the Respira-tory Tract Using Dry Powder Inhalers. *Int. J. Pharm.* 1994, 101, 1-13.
35. Johnson, M. Fluticasone Propionate: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Implications of Different Aerosol Delivery Systems. *Respiratory Drug Delivery VI*, May 3-7, 1998, 61-70
36. Cater, J. I.; Vare, M.; Peters, W. J.; Olsson, B.; Go-mez, E. Comparison of the Efficacy of Fluticasone Pro-pionate Given Twice Daily via the Diskus™/Accuhaler™ and the Diskhaler™ in Patients with Asthma. *Eur. Re-sp. J.* 1995, 8, 427S.
37. Bousquet, J.; Tosserard, B.; Medley, H. V. Double-Blind Parallel Group Study to Compare the Long Term Clinical Efficacy and Safety of Two Different Methods of Administering Inhaled Fluticasone Propionate in Chronic Severe Asthmatic Patients. *Eur. Resp. J.* 1995, 8, 427S.

(陈桂良 译)

# 干粉吸入剂: 新兴的技术

Nora Y. K. Chew

Hak-Kim Chan

University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia

## 引言

药用气雾剂以干燥粉末形式经肺部给药已经不再是候补的方式了, 这是因为制备可呼吸的稳定粉末的装配技术, 以及能输送准确剂量和多种有效的负载的装置的出现造成的。

肺部给药也可以进入血液的确定扩大了经这个途径给药的化学实体的种类。治疗用蛋白质和多肽, 如胰岛素, 作为粉末经肺部给药就是一个例子, 表明药物吸收进入了血流, 从而很好地控制了导致糖尿病的患者的血糖<sup>[1,2]</sup>。

对于治疗用大分子的吸入给药, 问题和挑战在于制备粒子大小在  $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$  的细粉, 该粉末在制备、灌装和从吸入装置中排出的过程中都要保证它能很好地流动。与小分子相比, 大分子容易“破碎”, 因此在制备和储存的过程中必然有许多限制以保证其可分散性及生化、物理稳定性。蛋白质和多肽通常比小分子物质要昂贵得多, 因此有效地输送粉末且只有很少的损失是至关重要的, 而且足够的分散和输送药物到达患者体内对可重复性肺内分布和药物的全身吸收很重要。

本篇综述列举了近年来的一些药用干粉气雾剂给药系统技术。

## 粉末气雾给药的新兴技术

粉末吸入给药的改进有两个主要领域: ①粉末的制备和处方; ②粉末吸入装置。

### 1. 粉末的制备和处方

传统上, 应用冻干技术将蛋白质和多肽溶液制成干燥粉末。因为, 溶液干燥过程中无须升高温度, 从而保证了产物的稳定性。遗憾的是, 通过这种方法制备得到的粉末对于吸入来说颗粒太大。尽管通过研磨冻干粉末来减小颗粒的大小比较方便, 但是研磨的压力、温度和剪切还是有可能会导致蛋白质的生物活性的明显损失<sup>[3,4]</sup>。

目前, 两种最成功的制备吸入粉末的方法是喷雾干燥法和溶剂沉淀法。

#### 1.1 喷雾干燥

喷雾干燥为热空气将雾状的液滴干燥成粉末的过程, 该一步过程可以使颗粒的大小适合吸入<sup>[5]</sup>。粉末的粒径大小和粒子分布可以通过调节溶液的浓度、喷雾的温度、旋风效率和化学性质来进行控制<sup>[6]</sup>。

单独干燥得到的治疗用蛋白质粉末通常不稳定, 由于巨大的雾滴表面积、相对高的干燥温度、雾化过程中的机械压力, 蛋白质的完整性在喷雾干燥的过程中会受到很大的影响。有报道称, 对于吸入人重组脱氧核酶 (rhDNase), 将蛋白质与赋形剂一起干燥可以最大限度地减小蛋白质的降解<sup>[7,8]</sup>。

人重组生长激素 (rhGH) 由于气液界面的降解会造成分子聚集, 可以通过加入聚山梨酯-20 (无糖保护剂) 或在液体中加入  $\text{Zn}^{2+}$  来防止分子聚集。聚山梨酯-20 可以显著地减少不溶性蛋白质聚集体的形成, 而  $\text{Zn}^{2+}$  可以抑制可溶性蛋白质聚集体的形成。在喷雾干燥的 rhGH 粉末中加入聚山梨酯-20 和  $\text{Zn}^{2+}$  组合可以使蛋白质的降解减至最低。聚山梨酯分布在喷雾液滴的气-液界面, 以及与  $\text{Zn}^{2+}$  和 rhGH 之间形成的二聚物, 能减少蛋白质链打开、形成聚集的可能<sup>[9]</sup>。

喷雾干燥重组人单克隆抗体, 抗 Ig-E (rhMAbE25), 加入海藻糖或乳糖, 喷雾干燥后只有  $\leq 1\%$  单抗形成聚集物<sup>[10]</sup>。但含有海藻糖的粉末对于喷雾给药而言黏性太大。甘露醇对于稳定 rhMAbE25 作用较差, 喷雾干燥后有  $1\% \sim 3\%$  发生聚合。当甘露醇的浓度超过  $20\% (w/w)$  时, 就没有稳定作用了<sup>[11]</sup>。例如, 促卵泡激素 (FSH), 含有甘露醇、蔗糖、棉子糖作为赋形剂的处方喷雾干燥后只有  $\leq 2\%$  的聚集。含有甘露醇的处方聚集程度最高, 有  $1.2\%$  聚集, 含蔗糖和棉子糖的处方只有  $0.05\%$  聚集。含有甘露醇的处方干燥后的粉末得率只有  $50\%$ , 比蔗糖的  $70\%$  和棉子糖的  $74\%$  少得多。除此之外, 含有甘露醇的处方排空率最高, 达  $66\% (w/w)$ , 而含有蔗糖和棉子糖的形成物分别只有  $15\% (w/w)$  和  $55\% (w/w)$ <sup>[12]</sup>。这个结果表明, 要分别研究每个蛋白质/赋形剂系统, 以确定各自的性质来鉴别粉末喷雾产物和蛋白质稳定性的最佳处方。

#### 1.2 喷雾干燥过程的改进

喷雾冷冻干燥: 喷雾冷冻干燥是一种用于生产蛋白质气雾粉末的方法, 即将溶液喷入液氮中, 随后进行冷冻干燥。这个过程产生较大的 ( $8 \sim 10 \mu\text{m}$ ) 但多孔性的 rhDNase 和 anti-IgE 粒子, 并且得率很高 ( $>95\%$ )。由于提高了空气动力学的性质, 喷雾冷冻粉末中的细小粒子部分 (FPF) 比喷雾干燥粉末中的要多<sup>[13]</sup>。然而整个工艺比喷雾干燥的花费要高得多, 更复杂更耗时间。

疏水性药物喷雾干燥工艺: 传统的喷雾干燥工艺限于水溶液中的亲水性药物与亲水性赋形剂, 这对于含有疏水性药物和亲水性赋形剂或相反的系统不太适宜。有一项关

## G

于喷雾干燥药物和其他物质(包括亲水性的和疏水性的)的专利,即采用有机溶剂进行疏水性材料的喷雾干燥。一个基本的要求是亲水的赋形剂和疏水的药物至少部分溶解在同一个有机溶剂或潜溶剂中<sup>[14]</sup>。例如,布德松(疏水性药物)和聚乙烯吡咯烷酮(亲水性赋形剂)在甲醇中都有较好的溶解度。这样的药物-赋形剂组成可以得到有细小凹槽的球体粉末,含湿量大约为0.49% (w/w)、粒径大小为2.3 $\mu\text{m}$ 。排空率大约为50% (w/w)。非水或部分水系统的应用可以制备物理或化学上对水或在水溶液中敏感的粉末,或者减少粉末中的水分。

### 1.3 溶剂沉淀

溶剂沉淀法利用了非溶剂在临界温度和压力下将药物从溶液中沉淀成为固体颗粒的独特性质。 $\text{CO}_2$ 在临界温度31.1 $^\circ\text{C}$ 和临界压力70bar下,表现出显著的溶剂特性,能溶解高相对分子质量、低蒸汽压的固体,是一种很理想的非溶剂。 $\text{CO}_2$ 还具有无毒、价格低廉和广泛存在的优点。超临界流体技术的细节见原书第一版的第18卷<sup>[15]</sup>。该技术已经成功地应用于生产气雾给药的细小颗粒<sup>[16-18]</sup>。

Copper等<sup>[19]</sup>已经开发了SEDS(超临界流体增强溶液的扩散)技术,用来生产抗哮喘药物沙美特罗经羧酸盐的粉末。这种方法可以控制溶液在系统中的扩散,从而控制微米范围的粒子性质。该技术也已经用来制备治疗用蛋白质粉末,其中关键性的实验装置为三通道同轴喷嘴,利用高速超临界 $\text{CO}_2$ 将水和有机溶液扩散,使粒子形成腔道。溶菌酶和一种治疗用多肽可以维持很高的生物活性(分别为95%和100%)。

另外,还可以用超临界或近于超临界 $\text{CO}_2$ -辅助的雾化和气泡干燥过程生产蛋白质颗粒<sup>[20]</sup>。该方法利用了 $\text{CO}_2$ 在水中的高溶解度,结合药物溶液通过喷嘴膨胀形成雾状的溶液。当生成的微泡干燥后,按照化合物的不同形成固体(如大小在0.5~5 $\mu\text{m}$ 的乳糖和硫酸沙丁胺醇)或空心球体(如氯化钠、甘露醇或硫酸妥布霉素)。蛋白质粉末,如溶菌酶或乳酸脱氢酶,也可以通过这个方法制备,还可以通过在处方中加入糖、缓冲液和表面活性剂来提高其稳定性。取决于溶质和干燥的条件,有时颗粒为结晶状,有时为无定形状<sup>[21]</sup>。

最近, Bustami等<sup>[22]</sup>研究了ASES工艺(气雾剂溶剂萃取系统)制备吸入用蛋白质微粒的可行性。所产生的蛋白质粉末的大小在100~500nm。体外测试显示了溶菌酶、白蛋白和胰岛素分别有65%、40%、20% (w/w) 能被吸入。没有或很少发现这些蛋白质有单体含量的损失。

### 1.4 提高粉末流动性和分散性的方法

加入赋形剂:用上述任何一种方法制备得到的粉末可能对气雾剂装置充填和吸入给药而言太黏而不能直接应用,如将抗-IgE与海藻糖一起进行喷雾干燥<sup>[10]</sup>,以及喷雾干燥的rhDNase粉末均是如此<sup>[8]</sup>。与传统的用二元混合系统(如药物加粗的载体)的方法相反,加入细的载体颗粒

(<10 $\mu\text{m}$ ),如乳糖和硬脂酸镁形成一个三组分的系统,结果显示可以大大增加在气雾烟中的药物颗粒的量<sup>[23,24]</sup>。细的载体颗粒的作用是通过占领大载体颗粒表面可以结合药物的位点而减少药物-粗载体之间的相互作用。在细小载体和药物之间形成多重态可能会阻碍药物和粗载体之间的接触,从而促进粉末分散过程中药物颗粒从载体表面的分离。研究发现,低到0.1%浓度的硬脂酸镁能充分增加气雾烟中硫酸沙丁胺醇的细小颗粒<sup>[24]</sup>。

最近, Ganderton等<sup>[25]</sup>已经发现加入喷雾干燥的低密度氨基酸也可以增加气雾剂中细小颗粒的量。这些低密度、薄片状的颗粒的本体密度为0.1g/mL,厚度 $\leq 100\mu\text{m}$ ,MMAD $\leq 10\mu\text{m}$ 。加入1%低密度亮氨酸颗粒就可以使气雾剂中的沙丁胺醇的细颗粒增加约25% (w/w)。然而,加入10%的亮氨酸与不加相比,对气雾剂中沙丁胺醇的细颗粒的量没有什么影响。

另外一个传统的增加粉末流动性和分散性的方法是形成凝聚体。然而,经常使用的液体,如烷醇,可以溶解并改变大分子的活性。最近发现,碳氟化合物(FC)液体包括氟碳烷和氟碳辛溴化合物都有使用,因为它们都是疏水性的且不能溶解蛋白质。此外,碳氟化合物的表面张力低,在松的凝聚体的细颗粒间形成较弱的键,随后可以作为气雾剂而再次分散。碳氟化合物的蒸汽压很高,在最后产品中的残留较少<sup>[26]</sup>。碳氟化合物不包含氯原子,因此不损坏臭氧。

### 1.5 特制的粉末

除了应用赋形剂,还可以通过控制粉末的物理性质来提高粉末的流动性和分散性。

AIR<sup>TM</sup>颗粒(美国Alkermes公司,图1)是通过将含有药物与可生物降解材料(如聚乙醇酸、聚乳酸或共聚物)的混合物溶液喷雾干燥而制得的。AIR<sup>TM</sup>颗粒的堆实密度很低,只有约0.4g/cm<sup>3</sup>,表面不规则。这些低密度颗粒在物理上体积较大,但是在空气动力学上粒径很小,可以增加粉末的流动性和分散性,适合深部肺部给药。大颗粒还可以减少在肺部处被噬菌细胞摄取,从而可能控制药物在肺部的释放<sup>[27,28]</sup>。

Pulmosphere<sup>TM</sup>; Pulmosphere<sup>TM</sup> (美国吸入治疗系统公司)

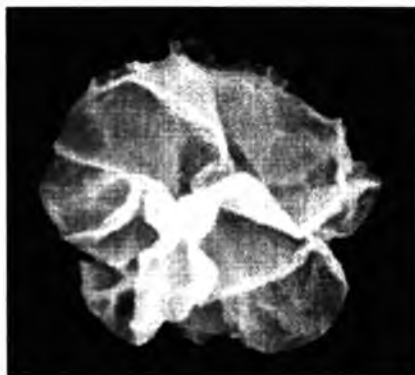


图1 AIR<sup>TM</sup>颗粒(美国Alkermes公司)



颗粒也是通过喷雾干燥而制备的，溶液中含有溶解的或分散的活性药物的水溶液、单层磷脂（如二棕榈酰磷脂酰胆碱）稳定的碳氟化合物-水乳剂<sup>[29]</sup>。中空和多孔的 Pulmosphere™颗粒的密度为 0.05~0.2g/cm<sup>3</sup>，大小为 2~4μm。这些颗粒不需要载体就比原来的药物-载体与乳糖混合物要容易分散。

**表面皱折的颗粒：**与中空和多孔的 AIR™颗粒、Pulmosphere™相反，我们实验室最近制备了表面皱折的固体蛋白质颗粒。与球形颗粒相比，这些皱折的颗粒显著提高了牛血清白蛋白的 FPF<sup>[30]</sup>。皱折颗粒之间的表面接触减少了（图 2），从而减少了粉末的内聚力。与相同空气动力学粒径的光滑的球形颗粒相比，皱折颗粒的分散对吸入器和气流的依赖性要少。

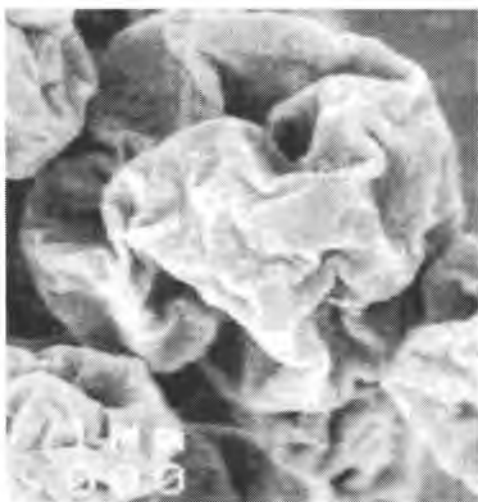


图 2 通过喷雾干燥而得的皱折的牛血清白蛋白颗粒

## 2. 粉末吸入装置

干燥粉末制备和处方只是吸入给药系统的一部分。这些粉末的分散与吸入装置的性能密切相关。

最近的粉末吸入装置的发明，其目的在于提高吸入器的分散效率和减少装置的阻力，以及为了满足不同患者输送正确和灵活的剂量的需要，给药不与患者的吸入动作相关连。

### 2.1 Innova™和 Solo™

Innova™（美国吸入治疗系统公司，图 3）是一种单剂量吸入装置，是为长期用药而设计的。其动力是压缩空气，不需要患者的吸入动作就能产生气雾。一个透明的可握小室保证患者能够看到气雾剂，以确保剂量正确。此外，这个装置的设计能够液化和提取存储器中大于 90%的剂量，从而使浪费减至最小，并增加剂量的准确度和精确度<sup>[31]</sup>。

吸入治疗系统公司设计的 Solo™装置是一个患者驱动的单位剂量吸入器。它有一个内置的流量控制器，可以最大限度地提高患者的剂量重复性。这是一个为短期用药、大剂量药物而设计的装置<sup>[32]</sup>。

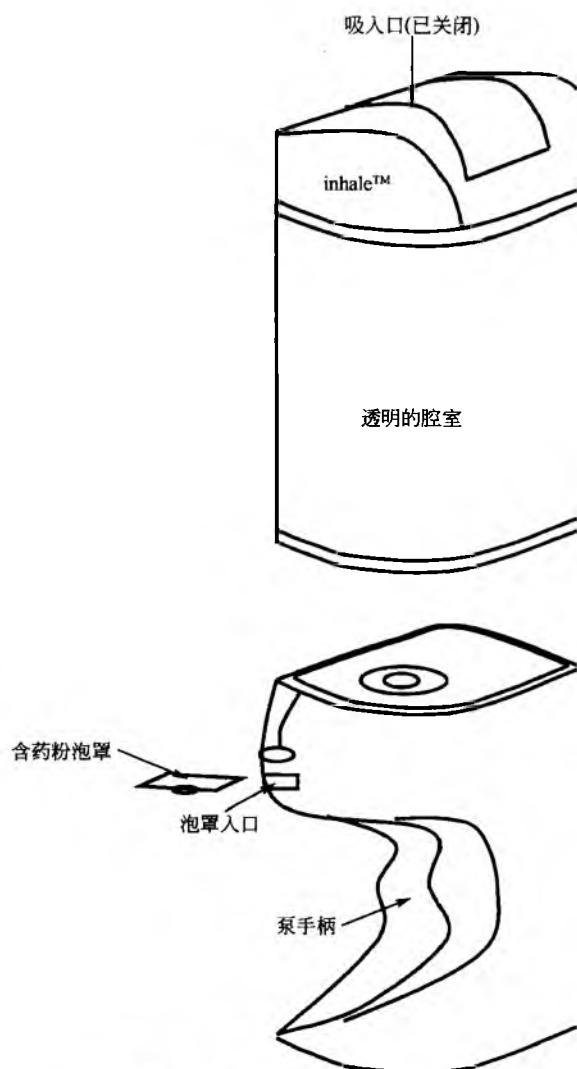


图 3 吸入治疗系统的 Innova™简图<sup>[32]</sup>

### 2.2 SkyePharma 多剂量干粉吸入剂 (mDPI)

SkyePharma 是一种多剂量袖珍吸入装置，“智能的”单剂量计数器可以计数已使用的剂量和留在吸入器中的剂量。内置的锁装置还保证了最后的给药剂量无缩小效应<sup>[33]</sup>（图 4）。



图 4 SkyePharma mDPI

## 2.3 珠子吸入技术

Elan 制药公司开发了 Spiros® S2 吸入器，它的特点是利用珠子在吸入时分散粉末。目前它还处在开发阶段。试验的结果显示，Spiros® S2 吸入器的分散效率高，能够在相对低的吸入流速时运送药物（30L/min，60L/min）<sup>[34]</sup>。

## 2.4 Twisthaler®

Twisthaler®（美国 Schering-Plough 公司，图 5）的喷嘴形状为特别设计的，其气流模式使小颗粒经过凹槽通道而到达装置外，而大颗粒或聚集体会旋转进入离心模式而解聚成细小颗粒以便吸入。该设计优化了粉末的解聚，同时也减少了药物在喷嘴和入口的滞留<sup>[35]</sup>。

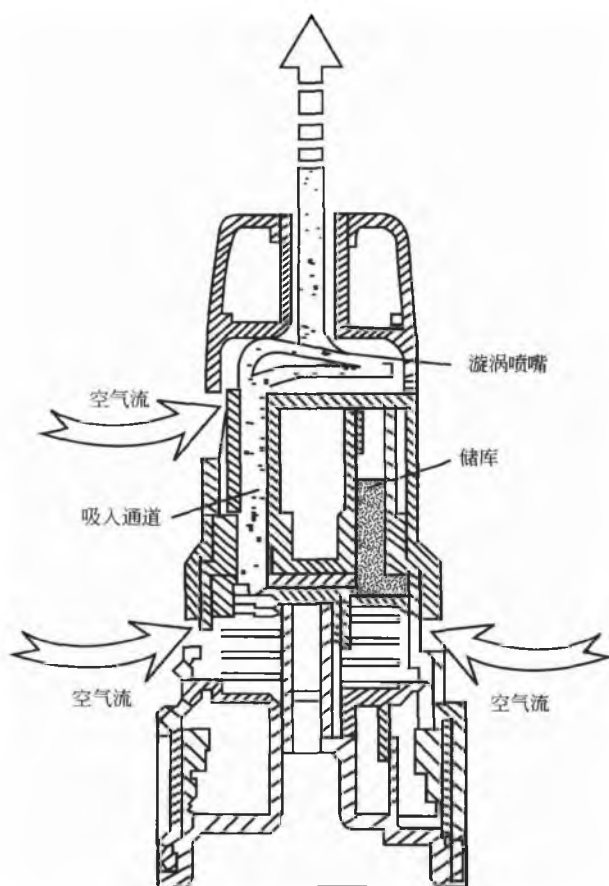


图 5 ASMANEX™ TWISTHALER™ DPI 的吸入装置

## 2.5 Hovine FlowCaps®

Hovine FlowCaps® [葡萄牙 Hovione SA 公司，图 6 (a) 和 (b)] 是一种胶囊-粉末吸入器。它取代了传统的针穿刺，胶囊被两个刀片穿刺，在每个胶囊的末端形成狭窄的切口。胶囊装在管形吸入器的一端<sup>[36,37]</sup>。吸入时，气体主要进入吸入器管道的入口，而只有很少的一部分气体进入胶囊。从装置中排空之前，粉末在胶囊中流化并形成紊流。

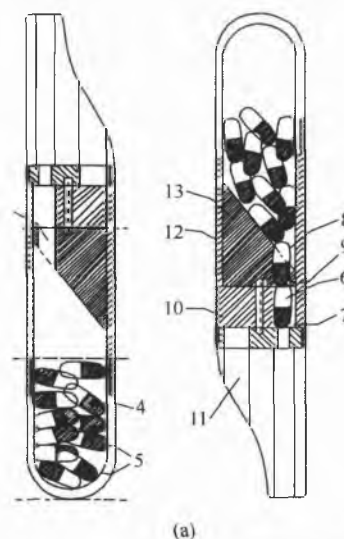


图 6 (a) Hovione FlowCaps® 干粉吸入装置。胶囊随意装载，与其他的胶囊基础系统不同，胶囊不是插入指定的方向。一种专利的斜坡可以自动地使胶囊装载进入吸入器小室。患者可以真切地看到这个过程的发生。使用的方便，使患者愿意使用。(b) 照片显示 Hovione SA FlowCaps® 干粉吸入器中胶囊内粉末的分散

## 参考文献

1. Patton, J. S.; Bukar, J.; Nagarajan, S. Inhaled Insulin. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, 35, 235-247.
2. Clark, A.; Foulds, G. H. Aerosolized active agent delivery. *World IPO* 9, 947, 196, 1999.
3. Platz, R. M.; Ip, A.; Whitham, C. L. Process for preparing micronized polypeptide drugs. *US patent* 5, 354, 562, 1994.
4. Platz, R. M.; Utsumi, J.; Satoh Y.; Naruse, N. Pharmaceutical aerosol formulation of solid formulation of solid polypeptide microparticles and method for the preparation thereof. *World IPO* 9, 116, 038, 1991.
5. Vidgren, M. T.; Vidgren, P. A.; Paronen, T. P. Comparison of physical and inhalation properties of spray dried and mechanically micronized disodium cromoglycate. *Int. J. Pharm.* 1997, 35, 139-144.
6. Masters, K. *Spray Drying Handbook*; John Wiley & Sons: New York, 1976.

7. Chan, H.-K.; Clark, A.; Gonda, I.; Mumenthaler, M.; Hsu, C. Spray dried powders and powder blends of recombinant human deoxyribonuclease (rhDNase) for aerosol delivery. *Pharm. Res.* 1997, 14, 431-497.
8. Clark, A. R.; Dasovich, N.; Gonda, I.; Chan, H.-K. The balance between biochemical and physical stability for inhalation protein powders; RhDNase as an Example. In *Respiratory Drug Delivery V*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1996; 167-174.
9. Maa, Y.-F.; Nuygen, P. A.; Hsu, S. W. Spray-drying of air-liquid interface sensitive recombinant human growth hormone. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 152-159.
10. Andya, J. D.; Maa, Y. F.; Constantino, H. R.; Nguyen, P. A.; Dasovich, N.; Sweeney, T. D.; Hsu, C. C.; Shire, S. J. The effect of formulation excipients on protein stability and aerosol performance of spray-dried powders of recombinant humanized anti-IgE monoclonal antibody. *Pharm. Res.* 1999, 16, 350-358.
11. Costantino, H. R.; Andya, J. D.; Nguyen, P. A.; Dasovich, N.; Sweeney, T. D.; Shire, S. J.; Hsu, C. C.; Maa, Y. F. Effect of mannitol crystallization on the stability and aerosol performance of a spray-dried pharmaceutical protein, recombinant humanized anti-IgE monoclonal antibody. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1406-1411.
12. Nagarajan, S.; Patton, J. S.; Bennet, D. B. Pulmonary administration of dry powder formulations for treating infertility. *World IPO* 0,061,178, 2000.
13. Maa, Y. F.; Nguyen, P. A.; Sweeney, T.; Shire, S. J.; Hsu, C. C. Protein inhalation powders; Spray drying vs. spray freeze drying. *Pharm. Res.* 1999, 16, 249-254.
14. Gordon, M. S.; Lord, J. D. Processes for spray drying solutions of hydrophobic drugs and compositions thereof. *US Patent* 5,985,248, 1999.
15. Dondeti, P.; Desai, Y. Supercritical fluid technology in pharmaceutical research. In *Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1998; Vol. 18, 219-248.
16. Winters, M. A.; Knutson, B. L.; Debenedetti, P. G.; Sparks, H. G.; Przybycien, T. M.; Stevenson, C. L.; Prestrelski, S. J. Precipitation of proteins in supercritical carbon dioxide. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85, 586-594.
17. York, P.; Hanna, M. Particle engineering by supercritical fluid technologies for powder inhalation drug delivery. In *Respiratory Drug Delivery V*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Eds.; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1996; 231-239.
18. Sievers, R. E.; Karst, U.; Milewski, P. D.; Sellers, S. P.; Miles, B. A.; Schaefer, J. D.; Stoldt, C. R.; Xu, C. Y. Formation of aqueous small droplet aerosols assisted by supercritical carbon dioxide. *Aerosol Sci. Technol.* 1999, 30, 3-15.
19. Cooper, S. M. Aerosol Formulations of Salmeterol Xinafoate. *World IPO* 9,955,319, 1999.
20. Sievers, R. E.; Sellers, S. P.; Clark, G. S.; Villa, J. A.; Mioskowski, B.; Carpenter, J. Supercritical fluid carbon dioxide technologies for fine particle formation for pulmonary drug delivery. *Book of Abstracts, 219th ACS National Meeting, San Francisco, CA, 2000; MED-173* American Chemical Society; Washington, DC, 2000.
21. Sievers, R. E.; Milewski, P. D.; Sellers, S. P.; Miles, B. A.; Korte, B. J.; Kusek, K. D.; Clark, G. S.; Mioskowski, B.; Villa, J. A. Supercritical and near-critical carbon dioxide assisted low-temperature bubble drying. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2000, 39, 4831-4836.
22. Bustami, R. T.; Chan, H. K.; Dehghani, E.; Foster, N. R. Generation of microparticles of proteins for aerosol delivery using high pressure modified carbon dioxide. *Pharm. Res.* 2000, 17, 1360-1366.
23. Lucas, P.; Anderson, K.; Staniforth, J. N. Protein deposition from dry powder inhalers: Fine particle multiplets as performance modifiers. *Pharm. Res.* 1998, 15, 562-569.
24. Musa R.; Ventura P.; Chiesi, P. Improved powdery pharmaceutical compositions for inhalation. *World IPO* 0,053,157, 2000.
25. Ganderton, D.; Morton, D. A.; Lucas, P. Improvements in or relating to powders. *World IPO* 0, 033, 811, 2000.
26. Johnson, K. A.; Gordon, M. S.; Lyons, S. W. Methods and system for processing dispersible fine powders. *US Patent* 6,103,270, 2000.
27. Rudt, S.; Muller, R. H. Effect of analytical parameters, particle size and particle concentration. *J. Control. Rel.* 1992, 22, 263-271.
28. Kawaguchi, H.; Koiwai, N.; Ohtsuka, Y.; Miyamoto, M.; Sasakawa, S. Phagocytosis of latex particles by leucocytes. I. Dependence of phagocytosis on the size and surface potential of particles. *Biomaterials* 1996, 7, 61-66.
29. Tarara, T.; Weers, J.; Dellamary, L. Engineered powders for inhalation. In *Respiratory Drug Delivery VII*; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Serentec Press; Raleigh, NC, 2000; Vol. 2, 413-416.
30. Chew, N. Y. K.; Chan, H. K. Use of solid corrugated particles to enhance powder aerosol performance. *Pharm. Res.* 2001, 18, 1570-1577.
31. Smith, A. E.; Burr, J. D.; Etter, J. W.; Axford, G. S.; Anthony, J. M. Apparatus and methods for dispersing

- dry powder medicaments. US Patent 5,740,794, 1998.
32. Inhale, Family of Inhalers. 2001 Inhale Therapeutic Systems Inc. (Access 1 August, 2001) . [http://www.inhale.com/webpage\\_templates/tech\\_frame.php3?page\\_name 1/4 delivery](http://www.inhale.com/webpage_templates/tech_frame.php3?page_name 1/4 delivery).
33. SkyePharmaTechnology; Inhalation. SkyePharmaPLC [Access 1 August, 2001] <http://www.skyepharmacom/inhalation.html>.
34. Witham, C. In Bead Inhaler Technology. Abstracts of Papers, Aerosol in Medicine, Brisbane, Qld, Australia, March 19–20, 2001; S13.
35. Fan, B. J.; Yang, T. T.; Kenyon, D. Application of computer modeling in the design and development of the new mometasone furoate dry powder inhaler (MF-DPI) nozzle. In Respiratory Drug Delivery VI; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J., Eds.; Serentec Press; Raleigh, NC, 2000; Vol. 2, 491–493.
36. Villax, P.; Peres, R.; Treneman, W. R.; McDerment I. G.; Bunce, M. Medicament inhaler and method. US Patent 5,673,686, 1997.
37. Bunce, M.; Lamb, J.; Greeves, M.; McDerment, I. G.; Villax, P. Apparatus for orienting and positioning an elongate object for dispensing. US Patent 5,881,721, 1999.

(万丽卿 陈桂良 译)

## 干热灭菌法

Andrea Chieppo

Thomas Kupiec

Analytical Research Laboratories, Oklahoma City, Oklahoma, U. S. A.

## 引言

灭菌意味着毁灭所有的有机体。灭菌的目的是采用最古老且公认的加热法破坏微生物的生存和繁殖能力<sup>[1]</sup>。干热法是那些不会被蒸汽充分渗透或被湿气破坏<sup>[2]</sup>的热稳定物品灭菌的首选方法。干热灭菌法通常应用于医药工业中,包括粉末类、油类<sup>[3]</sup>、凡士林、玻璃器具和不锈钢设备<sup>[2]</sup>的灭菌消毒。

与蒸汽灭菌法相比,干热灭菌法的过程并不复杂,然而干热灭菌法相对较慢且需要更高的温度和(或)更长的暴露时间。这是因为与相同温度的蒸汽灭菌相比,干热条件下微生物的致死率较低<sup>[2]</sup>。根据药典,干热灭菌有不同的温度和时间。美国药典(USP)认为盛放无菌药剂的容器的干热灭菌过程需要 160~170℃,持续 2~4h;英国药典则描述为干热灭菌的温度不应低于 160℃,时间不应少于 1h;欧洲药典推荐的条件为 180℃,30min。不同的材料和灭菌设备导致各个药典间的条件不一致,但是我们对干热灭菌法仍然缺乏足够的认识<sup>[4]</sup>。

干热灭菌有两个主要目标:微生物及其副产物——热原或内毒素。除热原过程可以破坏这些副产物的化学活性。干热法对微生物和内毒素的破坏被认为是一个氧化过程,几乎可以看成是燃烧<sup>[5]</sup>。除热原与灭菌相比需要更高的温度,可以概括如下:

如果完成了有效的干热除热原过程,通常也已完成了灭菌过程。即使没有达到除热原也可有效地完成干热灭菌。如果采用湿热灭菌,在正常的操作条件下不能达到除热原的效果<sup>[5]</sup>。

## 干热灭菌动力学

灭菌过程是一个概率函数。在医药工业中,已灭菌的物品或剂型中存在低于百万分之一的活微生物即可认为是无菌的。因此有  $10^{-6}$  的可能性存在活菌<sup>[6]</sup>。在所有的灭菌过程中,微生物的灭活符合一级化学反应,也就是以接近对数速率进行<sup>[7]</sup>。

下面的公式描述了微生物灭活的方式:

$$K = 1/t(\log N_0 - \log N)$$

式中:  $K$  为常数,是以 10 为底数的对数,其值与有机体、温度和底物质有关;  $t$  为暴露时间,以分钟为单位;  $N_0$  为灭菌前的微生物数量;  $N$  为灭菌周期末期存活的微生物数量<sup>[7]</sup>。

使用自然对数,公式的指数形式为

$$N = N_0 e^{-Kt}$$

如果微生物数量减少了 90%,  $K$  方程可改写为

$$K = 1/t(\log N_0 - \log 0.1N_0)$$

$$K = 1/t(1) = 1/t$$

$$t = 1/K$$

时间  $t$  定义为微生物数量减少 90% 的时间或  $D$  值,因此

$$D = 1/K \text{ 或者 } D = 1/10$$

图 1 表示测定  $D$  值的简化方法,可以测得微生物数量减少 90% 的时间<sup>[7]</sup>。

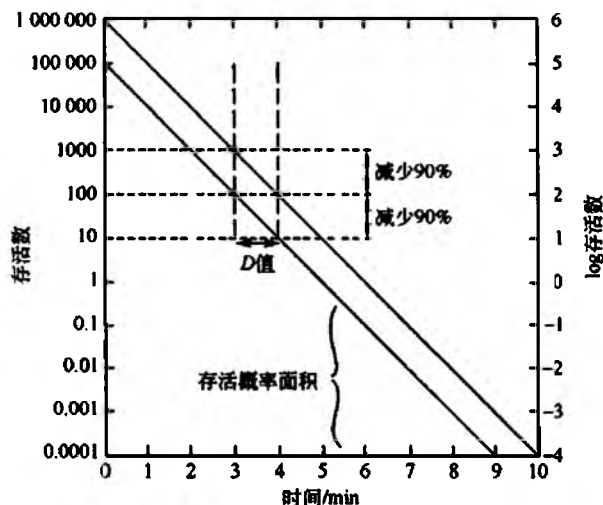


图 1 微生物死亡速率曲线图,表明微生物减少 90% (即  $D$  值) 的概念和微生物存活概率<sup>[6]</sup>

干热灭菌法动力学与湿热灭菌法动力学相当。可用于代表干热灭菌过程的有机体是枯草杆菌变种的芽孢<sup>[4]</sup>。假定这些芽孢的  $D_{170}$  值,即在 170℃ 条件下杀灭 90% 芽孢所需的时间,至少为 1.5min<sup>[6]</sup>。

### $F_H$ 概念

对于非 170℃ 的干热灭菌温度,我们采用  $F_H$  值。 $F_H$  值的定义与湿热灭菌中的  $F_0$  值相同,指达到 170℃ 条件下相等致死率的时间参考值。 $F_H$  值的单位用分钟或秒表示,其计算公式与  $F_0$  值相同,唯一不同的是用 20℃ 的  $z$  值取代了 10℃ 的  $z$  值<sup>[6]</sup>。

## 干热灭菌过程

其他灭菌方法飞速发展,但干热灭菌法却几乎停滞不

前。如今使用的消毒器仍然与十年前的基本相同<sup>[1]</sup>。

目前使用的干热灭菌法有两种工艺：①干热间歇灭菌/炉灭菌；②干热隧道灭菌。工艺①在医药工业中应用广泛，根据对流传热原理加热待灭菌物品；工艺②仅应用于大规模灭菌过程，主要用在玻璃制品的灭菌和除热原<sup>[6]</sup>。

### 1. 对流加热过程

医药工业中常使用大型工业炉，通常这种大规模工艺仅用于灭菌，因为除热原需要较高的温度且需用时间很长<sup>[6]</sup>。当热在不同部分的介质间传递时就会出现对流热。对流热有两种类型，分别是自然对流热和强制对流热。自然对流热的产生是由密度不同产生的浮力引起的；在强制对流加热过程中，经高效粒子过滤器（HEPA）过滤的空气通过炉子的电热元件上方加热，再通过强制对流将空气的热量传递给产品<sup>[2]</sup>。对流传热的基本方程为

$$q/c = \bar{h}_c A \Delta T$$

式中： $q/c$ 为对流传热的速率（BTU/hr）； $\bar{h}_c$ 为对流热传导的平均值 [BTU/（h ft<sup>2</sup> °F）]； $A$ 为面积（ft<sup>2</sup>）； $\Delta T$ 为流体表面温度与某一特定位点温度的差值（°F）<sup>[2]</sup>。

图2为现代强制对流间歇灭菌器的示意图。该装置为双门灭菌器，其中卸载门通向无菌区。室内的压力必须得到持续控制，以保证内部压力稍高于未消毒装载区而稍低于无菌卸载区<sup>[5]</sup>。

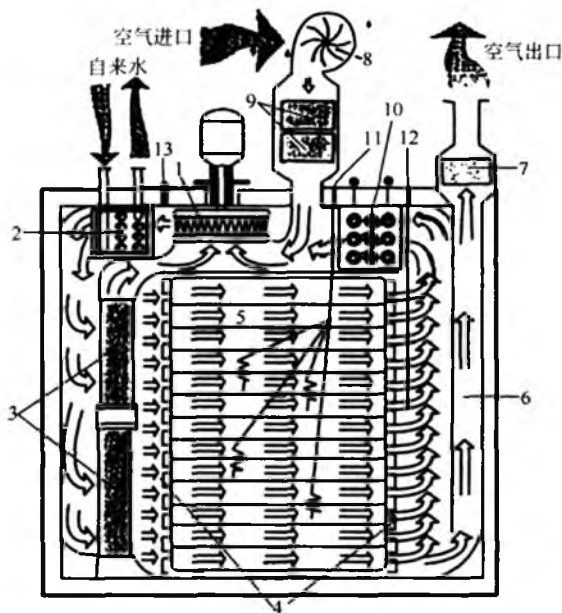


图2 干热间歇灭菌器<sup>[4]</sup>。1. 空气循环鼓风机；2. 水冷却电池（用于冷却阶段）；3. 循环 HEPA 过滤器；4. 启动/复原防水壁；5. 触轮和负载；6. 排放管；7. 防止反流法染的排放管 HEPA 过滤器；8. 用于控制室压力（按比例可控）的可变速度鼓风机；9. 室压力环上的预过滤器和 HEPA 过滤器；10. 电加热器（按比例可控）；11. 四个软铂 100 4-金属丝 RTDs；12. 主控铂 100 4-金属丝 RTDs；13. 压力传感器

炉灭菌过程包括四个步骤：①烘干；②加热；③暴露；④降温。在烘干步骤中，将产品中的水分蒸发到空气中，直到灭菌器的温度接近 80℃，此时，阀门关闭保证炉内温度达到操作运行水平，这就是加热阶段；当灭菌器的热感应器达到设定温度时，开始暴露阶段。完成定时暴露阶段之后，关闭加热元件，开始降温。图3表示常规的间歇灭菌过程<sup>[6]</sup>。

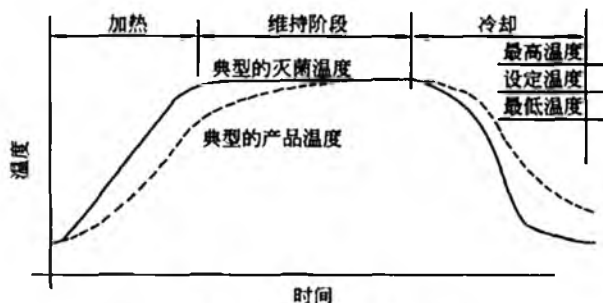


图3 间歇灭菌过程示例<sup>[2]</sup>

### 2. 干热隧道灭菌

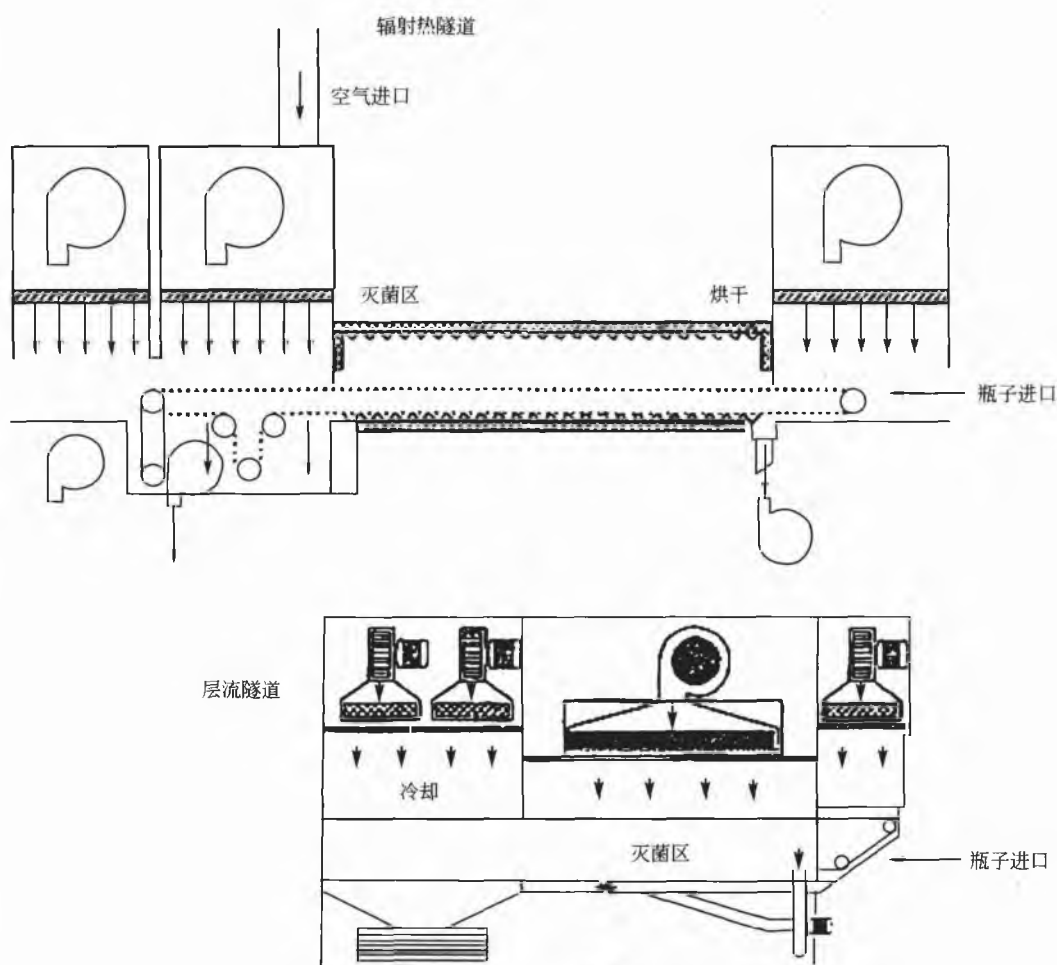
干热隧道灭菌与炉灭菌过程相反，是一个连续传导过程。在这一过程中，对预设数量的产品以预设的速度进行持续传导循环，以完成灭菌和（或）除热原<sup>[2]</sup>。

传导加热通过两种不同的机理发生。第一种机理是通过分子间的相互作用完成，即高能量分子将能量传递给低能量分子<sup>[2]</sup>。第二种机理是通过自由电子发生。不同固体传导热量的能力随自由电子的浓度而变化，有大量自由电子的固体为纯金属，而有低浓度自由电子的为非金属材料，因此纯金属是最好的热导体<sup>[2]</sup>。

干热隧道灭菌与炉灭菌不同，因为其并不像炉灭菌过程那样，其能量不会在加热与再加热的循环过程中损失。在隧道灭菌过程的大部分时间内，物质处于升温过程，而不像炉灭菌那样，产品始终处于恒定的暴露温度<sup>[6]</sup>。灭菌隧道主要由热绝缘通道组成，该通道直接将上游的清洗机与下游的无菌区连接。隧道内是水平旋转的传输带，由不锈钢网丝编织而成。产品在隧道内灭菌时，经过干燥、辐射热或热空气热处理后降温。典型的隧道灭菌暴露时间是 300℃或更高持续 3~4min。无论是采用辐射热还是热空气，隧道内部必须靠换气保持中间压力水平，这一压力水平介于下游的无菌区和装载室之间<sup>[5]</sup>。图4比较了两种主要类型的灭菌隧道。

#### 2.1 辐射热灭菌隧道

在医药工业中，辐射热隧道具有广泛用途。在这一过程中，能量从高温部分转移至低温部分，热量以有限的批能量形式散发而无需借助于中间介质<sup>[2]</sup>。红外线隧道通过使物体表面暴露于直接射线辐射传递能量，这由位于隧道顶部的红外线加热器完成。当物质经过隧道时，其表面随同隧道的内表面本身一起加热。然后热量再通过辐射、传

图4 灭菌隧道<sup>[5]</sup>

导和湍流贯穿产品<sup>[6]</sup>。

辐射加热过程的基本传递方程为

$$qr = \sigma AT_1^4$$

式中： $qr$  为热流速率，以 BTU/h 为单位； $A$  为发射物体的表面积，以  $ft^2$  为单位； $T_1$  为发射物体的表面温度，以 Rankine 度表示； $\sigma$  为 Stefan-Boltzmann 常数， $0.174 \times 10^{-8}$  BTU/h  $ft^2 \cdot R^{[2]}$ 。

红外线隧道有其缺点：体积大、带速慢、物体加热不均匀并会产生颗粒问题。这些颗粒是由发热元件及传送带的老化造成的。这一问题可以通过在隧道入口和降温区的接合处安装 HEPA 过滤器得到解决<sup>[6]</sup>。

## 2.2 热空气层流灭菌通道

空气灭菌最有效的方法是焚烧。在层流 (LF) 隧道内，产品通过热滤过空气循环被加热。之后空气由循环鼓风机抽出，留下产品由传输带下的加热元件加热，然后空气经过 HEPA 过滤器带回隧道内<sup>[5]</sup>。层流气流的扫荡作用有效消除了颗粒污染物。层流通道中的空气速度保持在 0.5m/s 左右。层流通道还具有迅速加热的优势，能缩短

灭菌过程。快速热传递过程也使产品受微粒污染的风险降低<sup>[6]</sup>。

从产品处理的角度出发，连续隧道灭菌法比炉灭菌法更加适合。这主要是因为组分拆包和装载于隧道直到灌装后包装的产品从生产线上移除，无需间歇处理操作。这在大规模生产中非常重要；但从无菌区隔离的容易程度来看，炉灭菌更适合。这是因为在隧道灭菌中，无菌区和隧道之间的开放连接必须要有持续不断的空气流，无菌区的空气压力必须比隧道的高。两者之间的压力差异过大会引起无菌区的过量气流溢出到隧道内，从而扰乱了隧道内的层流气流和温度<sup>[5]</sup>。

## 干热对微生物和内毒素的作用

### 1. 微生物菌群的灭活

如前所述，氧化作用可以使微生物灭活，但还应考虑其他可能性。一种可能性是对 DNA 的影响。在枯草杆菌芽孢中，已显示不致死温度可以由脱嘌呤作用引起突变；

还有结论表明由遗传决定的芽孢含水量的差异会导致芽孢对干热的敏感度不同<sup>[4]</sup>。人们对芽孢的水分活性和耐热性的关系产生了极大的兴趣。干微生物细胞的水含量对细胞的破坏速率相当重要,水含量由细胞周围空气的相对湿度测定,因此破坏速率随系统的相对湿度而变化。在干热灭菌中,水不是以液体状态存在的。如果相对湿度为100%,才有一些水以液体状态存在,由此干热灭菌体系的相对湿度可以在0~100%之间。为了确定干热灭菌的相对灭菌效果,除了温度之外还要了解相对湿度条件<sup>[1]</sup>。当达到平衡时,细胞中的水活性( $A_w$ )等于其周围环境的相对湿度<sup>[8]</sup>。水活性用来描述微生物细胞或芽孢内的相对水可用性,并与浓度相关,用标准状态下的纯组分部分表示:

$$A_w = 1$$

当报道干热灭菌试验数据时,需要测定和控制相对湿度而非水分活性。这是因为与含水量相比,生物样品更接近平衡蒸气压,而且干微生物细胞周围环境的水蒸气压比细胞内的含水量更易于测量和控制<sup>[1]</sup>。

有三个主要变量和三个次要变量与干热灭菌的作用模式相关。温度、含水量和时间为主要变量,次要变量为开放和封闭式系统、微生物的物理化学特性、邻近支持物和周围气压<sup>[8]</sup>。

### 1.1 温度的影响

干热灭菌法最重要的变量是温度。温度是衡量加热能量水平的量,是时间的函数。破坏速率随温度的变化而变化,用 $z$ 值表示。据报道微生物芽孢干热灭活的 $z$ 值为15~30℃<sup>[8]</sup>。

### 1.2 微生物含水量的影响

如前所述,水对干热破坏的微生物抵抗力有直接影响。在加热期间,芽孢的破坏速率是细胞内含水量的函数。在一定条件下,含水量是一个常数,而在多数情况下,含水量会发生变化以至于次级变量引起分析结果的混乱。细胞周围环境的水蒸气压决定微生物表面水分的去留。研究表明,当芽孢周围的空气湿度从0增加至0.2时, $D$ 值增加100倍。研究发现RH值在0.1~0.6的中间含水量芽孢,100~135℃之间的热效应抵抗力比高或低含水量的芽孢都要强<sup>[8]</sup>。

### 1.3 开放和封闭系统

开放和封闭系统的首次提出是为了比较加热环境对芽孢水分损失或获得的影响。

在开放系统中,芽孢周围的大气环境决定芽孢的含水量。在这一系统中,加热细胞,加热期间细胞会流失或获得水分。细胞流失或获得水分的速度由物理系统和芽孢的特性所决定<sup>[8]</sup>。

在封闭系统中,芽孢的含水量不受加热环境的影响,但受系统内部条件的影响。封闭系统与开放系统的不同之

处是水分转移和细胞对水的可获得性受到了限制。系统内部起始水量限制了细胞的有效水量或细胞流失或获得的水量。起始水量和封闭系统的内部体积是两个重要参数。在密封条件下,系统内部的相对湿度决定加热时细胞的水浓度,系统的总体积也是如此。改变任何一个参数都将改变相对湿度,从而改变加热时芽孢内的水含量<sup>[8]</sup>。

## 2. 土壤中微生物的干热破坏

有两类微生物,当其与人类和大气接触时便聚积在物体的表面。第一类包括赤裸的或无保护的微生物细胞,起源于人类或动物界。第二类由芽孢组成,存在于降落在无菌物体表面的灰尘或污垢微粒中。这些芽孢或来自空气,或来自物体周围操作者的活动。第一类的裸微生物细胞很容易被干热灭菌杀灭,但存在于土壤粒子中的芽孢很难被杀灭。关于土壤粒子中微生物的干热破坏特性,研究报道如下:

(1) 土壤中的微生物具有广泛的变异性,拥有不同的生存特性;

(2) 土壤中的不同生物体对干热都具有高度抵抗力,包括 *zerothermodurans* 杆菌,其  $D_{125^\circ\text{C}}$  值为139h;

(3) 某些有机体因被微粒包裹,对热的抵抗力增强,如枯草杆菌;

(4) 据估计,土壤中千分之一和十万分之一的芽孢对干热有很强的抵抗力;

(5) 土壤微粒中的结合水比湿气对孢子破坏速率的影响更大<sup>[8]</sup>。

土壤中微生物数量和种类上的可能变化以及其存在的自然条件的变化是不受限制的;土壤中的芽孢可以生存在微粒表面或内部的任何位置。芽孢经过多次土壤的润湿和干燥可以完全包裹在土壤微粒内部,这就使其对热的抵抗力以10的倍数递增<sup>[8]</sup>。

## 3. 内毒素的破坏

细菌内毒素或热原是一种当向人体或动物体大量注射时,会引起如体温升高等各种症状的物质。对于注射用药品和医疗器械来说,内毒素的去除与灭菌有相同甚至更大的重要性。其他大规模的灭菌方法如饱和蒸汽的湿热灭菌法、 $\gamma$ 射线辐射和环氧乙烷都不能够破坏内毒素<sup>[4]</sup>。

似乎所有的微生物都可以产生热原,但最有效力的热原为革兰氏阴性菌产生的。在革兰氏阴性菌的肽聚糖细胞壁上有一层结构松散的外膜。细胞膜外层由连接在磷脂和蛋白质上的脂多糖组成,形成渗透性屏障,阻止胞外酶扩散进入细胞内。细胞外膜的脂多糖部分能够引发高热反应,即俗称的细菌内毒素。纯化的内毒素仅由脂多糖组成,与自然产生的内毒素相比,在较低剂量下即可产生高热。脂多糖有三层截然不同的化学层,包括称为脂质A的核心、中间多糖层和外层多糖侧链。脂质A是产生致热原性的区域,由葡糖胺高度取代的二糖组成<sup>[4]</sup>。

内毒素的干热破坏非常复杂且难以理解。大多数事实



表明该破坏遵循二级动力学,即起始以较高的速率破坏,接着以较低的末期速率破坏<sup>[4]</sup>。对于脂多糖的干热破坏动力学,分别以  $D^1$  和  $D^2$  表示初始和次级反应速率。以前的研究表明,整个细胞中的脂多糖对干热的抵抗力比在半纯化状态下的脂多糖下降更多。对于整个细胞,  $D^1$  值为 1.6,  $D^2$  值为 12;而在半纯化状态下,  $D^1$  值为 3.7,  $D^2$  值为 29.4。因此整个细胞的破坏速率比半纯化状态快两倍<sup>[9]</sup>。

温度小于 80℃ 时基本没有内毒素破坏作用。 $D$  值可以达到约 170℃ 干热灭菌 20min 时那么高。这个二级模型在 250℃ 以上时给出的内毒素破坏动力学评价要比 170~250℃ 范围时好<sup>[6]</sup>。一般来讲,内毒素的破坏要求达到以下条件:

230℃——60~90min

250℃——30~60min<sup>[5]</sup>

USP 和 FDA 均声明要求处理前的内毒素应失活到不超过原来的 1/1000 量或者呈 3 个数量级的减少以证明热原被除去。在 170℃, 获得 3 个数量级减少量所需的最少时间在 3~66h。在 250℃, 获得 6 个数量级减少量的情况前已论述。因为这个原因,除热原周期是凭经验发展和验证的。然而, USP 建议的温度至少为 250℃<sup>[9]</sup>。

## 干热灭菌法的缺点

干热灭菌法只应用于不能用蒸汽灭菌的材料,因为湿气对材料具有破坏作用,或因为湿气不能穿透材料。有多复杂的因素会影响干热灭菌法。蒸汽灭菌的过程是由饱和和湿气完成的;而在干热灭菌法中,水汽变化不容忽视。由于水汽的减少,芽孢的致死率会随着连续加热过程而发生变化<sup>[1]</sup>。

虽然空气是最廉价的灭菌气体,但它却不是最好的热传导体。采用炉灭菌有几个不足之处。其中之一是炉内温度缺乏均匀性。热空气倾向于分层,并难以渗透入大量的冷材料中,但流动空气可以加速热传导。由于从空气到样品的热传导率低,因而炉灭菌的另一个问题是加热和冷却缓慢,使灭菌周期变得更长。高温导致的干热灭菌的其他缺陷是对材料产生热破坏甚至烧焦。氧化作用也会使材料受到破坏,因为能促进这种破坏作用的介质同样也增大了其毒性<sup>[1]</sup>。

## 结论

尽管已经进行了大量工作来改善和发展其他灭菌方法,但是干热灭菌领域的研究几乎没有开展。由于灭菌炉

内的温度分层和加热缓慢,使得干热灭菌过程耗时并难以控制<sup>[10]</sup>。对于那些蒸汽不能充分穿透但可以承受高温的样品(如油、石油和密闭容器等)来说,干热灭菌法仍是一种可选择的方法<sup>[2]</sup>。

近几年红外辐射通道的发展开辟了干热灭菌法的高温短期灭菌过程<sup>[4]</sup>。干热灭菌法的主要优势是其强大的穿透力。与蒸汽灭菌法相比,干热灭菌法不会腐蚀金属和利器,也不会侵蚀磨砂玻璃表面,这使得玻璃制品能在更高温度更短时间内灭菌<sup>[1]</sup>。

## 参考文献

1. Joslyn, L. Sterilization by Heat. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation*, 3rd Ed.; Block, S., Ed.; Lea and Febiger, Philadelphia, 1983; p. 3, 27-30, 766-767.
2. Validation of Dry Heat Processes Used for Sterilization and Depyrogenation, Technical Report No. 3; Parenteral Drug Association, Philadelphia, 1981.
3. Kupiec, T.; Mathews, P.; Ahmad, R. Dry-heat sterilization of parenteral oil vehicles. *Int. J. Pharm. Compd.* 2000, 4 (3), 223-224.
4. Molin, G.; Molin, O. Dry-heat sterilization of pharmaceutical glassware using hot air or infra-red radiation. *Acta Pharm. Suec.* 1976, 13, 476, 481-483.
5. Remington, J. Dry Heat Treatments. In *The Science and Pharmacy*; Mack Publishing Company: Easton, PA, 1995; 1472-1474.
6. Halls, N. Dry Heat Sterilization and Depyrogenation. In *Achieving Sterility in Medical and Pharmaceutical Products*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 109-120.
7. Bruch, C. W. Levels of sterility; Probabilities of survivors vs. biological indicators. *Bull. Parenter. Drug Assoc.* 1974, 28 (3), 105-113.
8. Block, S. S. *Disinfection, Sterilization, and Depyrogenation*, 4th Ed.; Lea and Febiger, Malvern, PA, 1991; 35, 97-101, 514-515.
9. Tsuji, K.; Harrison, S. Dry-heat destruction of lipopolysaccharide; Dry-heat destruction kinetics. *Appl. Environ. Microbiol.* 1978, 36, 710-714.
10. Molin, G.; Östlund, K. Dry-heat inactivation of *Bacillus subtilis* var. *niger* spores with special reference to spore density. *Can. J. Microbiol.* 1976, 22, 359.

(闻洪亮 陈阳 译)

## G

## 干燥和干燥设备

Anthony J. Hlinak

Bradley A. Clark

Pharmacia, Skokie, Illinois, U. S. A.

## 引言

许多制药操作(包括活性药物原料和辅料的生产)常常选用水或有机溶剂作为必要的操作助剂,但操作助剂的持续出现可能会妨碍后续的生产操作或引起最终药品的安全性和稳定性方面的问题。通过干燥这一普通的单元操作可使药品中的水分或有机溶剂含量降低到可接受的水平。干燥操作需要占用制药厂商的宝贵资源:厂房、设备、工具、劳动力和时间。因此,在经济压力下厂商们选用过度的干燥条件来尽量缩短工艺时间,增加处理量。但干燥速率往往影响被干燥物料的性状、功能和品质。因此,考虑经济的同时又要兼顾产品的品质和性能需要。

一般而言,干燥包括同时进行的三个过程:第一个过程,能量从外部介质转移到物料中的水或有机溶剂中;第二个过程是相转变,水或有机溶剂从液体或液态变成气态;第三个过程,产生的蒸气从药物材料中转移出来并排出干燥设备。由于这三个过程相互关联,干燥过程的分析非常复杂,必须同时考虑所有三个方面。

## 理论

## 1. 热传递

在大多数设备的设计中,能量以热的形式传递。通常热沿着温度降低的方向流动,存在3种传热机制。第一种机制是传导,包括单纯分子间动能的传递,其一维稳态可用热传导 Fourier 方程<sup>[1]</sup>来描述:

$$q_k = -kA \frac{dT}{dx} \quad (1)$$

式中:  $q_k$  为传导机制中的能量传递速率, cal/s;  $k$  为传热介质的热导率, cal/(s · cm · °C);  $A$  为传热面积, cm<sup>2</sup>;  $\frac{dT}{dx}$  是传热方向上的温度梯度, °C/cm。

为简单起见,当热传递为稳定的一维稳态流动,介质均匀且平面边界的温度固定时,方程(1)可积分为

$$q_k = \frac{kA(T_s - T_i)}{l} \quad (2)$$

式中:  $T_s$ 、 $T_i$  分别为暴露表面和介质内部的温度, °C;  $l$  为材料层的厚度, cm。

虽然式(2)由最简单的条件推导而来,但仍可用于分析图1所示各种干燥环境,包括合理近似处理的中等速率

例子。更复杂的情况,包括非平面几何形状、非稳态和复杂边界条件等,其解法可参考有关本内容的经典教科书<sup>[2]</sup>。

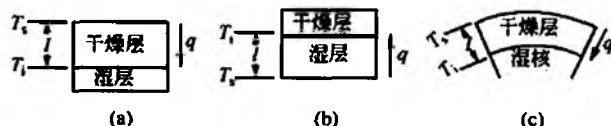


图1 方程(2)的应用。(a)对静态固体床层直接加热; (b)对静态固体床层间接加热; (c)球形颗粒的流化床干燥

热阻这个有用的概念可以通过方程(2)的简单再定义得到:

$$q_k = \frac{(T_s - T_i)}{R_k} \quad (3)$$

式中:  $R_k = \frac{l}{kA}$ , 即为热阻。方程(3)是电路理论中欧姆定律的另一功能形式,温差相当于电压差,能量流相当于电流,热阻相当于电阻。该形式强调了温差作为热传递驱动力的重要性,并且是能有效破坏组成热阻的物理因素。由于和欧姆定律的相似性,热“电路”被构建出来处理复杂的实例,包括多重机制同时作用的热传递和热源,或者利用电路的技术简化分析过程。

第二种热传递机制是对流,即分子间动能的传递被流体传递介质的宏观移动所放大。当气态介质弥漫在静止层的固体表面或悬浮固体颗粒周围,对流则成为最重要的热传递机制。对流模型可以用以下牛顿所提出的方程描述:

$$q_c = \bar{h}_c A (T_\infty - T_s) \quad (4)$$

式中:  $q_c$  为对流引起的能量传递速率, cal/s;  $T_s$  为固体表面的温度, °C;  $T_\infty$  为远离固体表面的流体温度, °C;  $A$  为传递面积, cm<sup>2</sup>;  $\bar{h}_c$  为平均对流传热系数, cal/(s · cm<sup>2</sup> · °C)。

方程(4)表面上的简单常常使人误解,因为对流传热系数实际上是一个非常复杂的流动状态、流体性质和系统几何形状的函数。此外,流体运动是否单纯由浮力产生(引起自然或自由对流),或是否由于外界机械(例如,使用泵、鼓风机产生强制对流)产生,使流体流动模式呈现出显著不同。当一种加热的液体流经固体的表面,速率和温度显著变化的区域紧紧局限于与固体表面直接邻近的一小部分。该边界层完全由层流方式移动的液体组成,其动力和能量的传递紧紧依靠分子间的相互作用。进而言之,边界层同时包括直接与固体表面相邻的亚层和扰乱区。

经典技术在很大程度上依赖于量纲分析<sup>[3]</sup>,许多变量和具有物理意义的无量纲组的整合,已经由各种几何形状

的定量热传递试验所证实。对制药相关的干燥应用而言, 这些无量纲组中最重要的包括努塞尔数 ( $Nu$ )、普朗特数 ( $Pr$ ) 和雷诺数 ( $Re$ ), 分别定义如下:

$$Nu = \frac{hL}{k_f} \quad (5a)$$

$$Pr = \frac{c_p \mu}{k_f} \quad (5b)$$

$$Re = \frac{VL\rho}{\mu} \quad (5c)$$

式中:  $k_f$ 、 $c_p$ 、 $\rho$  和  $\mu$  分别为对流液体的导热系数、恒压比热容、密度和动力学黏度;  $V$  为液体和固体的相对速率;  $L$  为该系统几何依赖的特性长度尺寸。值得注意的是,  $Pr$  与流体性质无关,  $Re$  的增加与液体和固体表面之间的相对速率成正比。应用实例如图 2 所示。

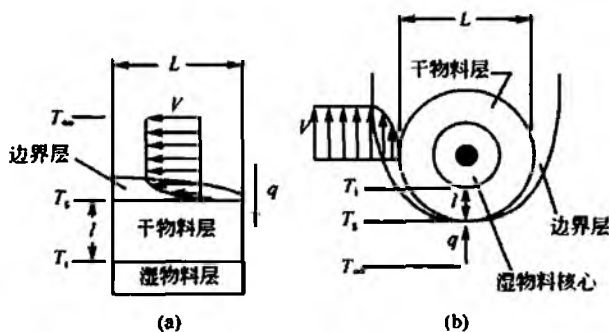


图 2 药物干燥中的对流传热。(a) 静止固体床的盒架式干燥; (b) 球形颗粒的流化床干燥

已知  $Nu$ 、液体相的导热系数和特性长度, 根据方程 (5a) 可以计算平均对流传热系数。对平坦表面而言, 如暴露在空气或其他气体 ( $Pr \approx 0.7$ ) 中的静止床的表面, Kreith<sup>[4]</sup> 对于低速率的层流态提供了下述方程:

$$Nu = 0.664 Re_L^{0.5} Pr^{0.33} \quad (Pr > 0.1 \text{ 且 } Re_L < 5 \times 10^5) \quad (6a)$$

对于高速率的紊流态:

$$Nu = 0.036 Pr^{0.33} [Re_L^{0.8} - 2300] \quad (Pr > 0.5 \text{ 且 } Re_L > 5 \times 10^5) \quad (6b)$$

对于球形粒子在空气或其他气流中的移动, Whitaker<sup>[5]</sup> 建议使用如下公式:

$$Nu = 2 + (0.4 Re_L^{0.50} + 0.06 Re_L^{0.67}) Pr^{0.4} (\mu_s / \mu_\infty)^{0.25} \quad (3.5 < Re_L < 76000) \quad (6c)$$

式中:  $\mu_s$  和  $\mu_\infty$  分别表示气体在粒子表面处温度和远离表面处温度下的动态黏度。假定球形粒子在气流中, 当限制条件为  $Re_L \ll 1$  时, Johnston 等<sup>[6]</sup> 揭示  $Nu$  的值接近于恒定值 2。

干燥设备的设计通常基于间接传导, 即热传导是由主要的热传递流体在某些管道或沟槽内传热至媒介器壁。这些例子的转换系数取决于流体性质 (层流或紊流) 以及管道或沟槽的几何形状 (长或短), 转换系数的表达式可以在教科书<sup>[7]</sup> 中查得。

与传导热阻类似, 对流热阻的表达式如式 (7) 所示:

$$q_c = \frac{T_\infty - T_s}{R_c} \quad (7)$$

式中:  $R_c = \frac{1}{h_c A}$  为对流热阻。

热传递的第三种机制是热辐射, 即受热表面以电磁辐射的形式向四周发射能量的过程。发射体产生的热辐射波长大致介于  $0.1 \sim 100 \mu\text{m}$ , 涵盖了紫外、可见和红外光谱。两表面间辐射热能的净交换量可以用式 (8) 表示:

$$q_r = \sigma A_1 \mathcal{F}_{1-2} (T_1^4 - T_2^4) \quad (8)$$

式中:  $q_r$  是热辐射过程中的能量转移速率,  $\text{cal/s}$ ;  $T_1$  是辐射面 1 的绝对温度,  $\text{K}$ ;  $T_2$  是辐射面 2 的绝对温度,  $\text{K}$ ;  $\sigma$  为 Stefan-Boltzmann 常数,  $1.35 \times 10^{-12} \text{ cal/s} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{K}^4$ ;  $A_1$  为表面 1 的辐射面积,  $\text{cm}^2$ ;  $\mathcal{F}_{1-2}$  为无量纲因数, 用于校正能量交换中表面的辐射性能和相对几何形状。

所有复杂的传热辐射分析都可以归结为无量纲因数  $\mathcal{F}_{1-2}$  的评价。该因数反映了能量交换中的表面性质和表面的几何取向。对有效表面而言, 发射和吸收的热辐射总量与温度、波长和角度方向相关。这些复杂关系常被忽略, 表面的辐射性质被集中到与波长和方向都无关的无量纲因数, 如发射率 ( $\epsilon$ )。发射率表示理想辐射体或黑体部分表面的辐射功率。如此简化处理的有效表面就被称之为灰体。对平行直角表面而言, 两表面之间的距离小于矩形较小的边, 因数  $\mathcal{F}_{1-2}$  可以表示为

$$\mathcal{F}_{1-2} = \frac{1}{\frac{1}{\epsilon_1} + \frac{1}{\epsilon_2} - 1} \quad (9)$$

式中:  $\epsilon_1$ 、 $\epsilon_2$  分别为发生能量交换的两个表面的发射率。对于一个处于较大密闭空间内的小球形粒子, 其因数  $\mathcal{F}_{1-2}$  可表示为

$$\mathcal{F}_{1-2} = \epsilon_1 \quad (10)$$

式中:  $\epsilon_1$  是球形粒子的发射率。至于更严格的处理方法, 建议读者参考更深入的内容<sup>[8]</sup>。方程 (8) 可进一步表达为类似传导和对流热阻的辐射热阻:

$$q_r = \frac{T_\infty - T_s}{R_r} \quad (11)$$

在这里辐射热阻还有一种更复杂的表达形式:

$$R_r = \frac{(T_\infty - T_s)}{\sigma A_s \mathcal{F}_{s-2} (T_1^4 - T_2^4)} \quad (12)$$

式中: 下标 s 和 2 分别表示产品表面和外部辐射面。

与前述定义的传导和对流热阻不同, 由方程 (12) 定义的热阻需要预先对温度有更多的了解, 可由以前干燥经验所得来的关于温度的足够信息使辐射热阻的评价得以实现。

根据欧姆定律类推可以构建出串并联热电路, 对特定的干燥用途进行描述。图 3 所示的电回路热能量流可以用下式表达:

$$q = \frac{(T_\infty - T_1)}{R_T} \quad (13)$$

其中

$$R_T = R_k + \frac{R_k R_r}{R_k + R_r} \quad (14)$$

是回路中热传递的总热阻。当  $R_r \gg R_c$  时, 辐射传热可以被忽略, 总热阻可以简化为

$$R_T = R_k + R_c \quad (15)$$

在干燥过程早期, 通过干燥层传导引起的热阻很小可以被忽略不计, 如图 1 中的 (a) 和 (c) 所示, 因为厚度  $l$  几乎为零。在此早期阶段, 根据辐射热阻显著与否, 总热阻可以表示为

$$R_T = \frac{R_c R_r}{R_c + R_r} \quad (16)$$

或

$$R_T = R_c \quad (17)$$

由于构成  $R_T$  的参数 [方程 (16) 或方程 (17)] 均与流速和温度相关, 当固定温度差和流速时, 在干燥的初始阶段热量传递速率是恒定的。随着干燥继续进行, 干燥层厚度不断增加, 因此由传导引起的热阻将逐渐成为总热阻的重要组成部分。当温度和流体条件固定时, 传热速率将随着时间的延长而降低。传热过程将一直持续到能量源和物料的温差为零。

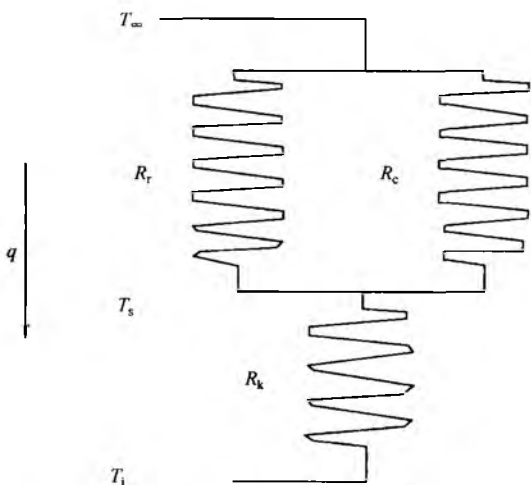


图3 干燥应用的热回路结构

## 2. 质量迁移

干燥过程中产生的蒸气必须从液气界面通过干燥物料层被转移到干燥设备外。对于单纯的扩散转运, Fick 定律的确切解适用于各种几何构型和边界条件, 一般是无限的形式。对于从上表面干燥的湿物料层, 起始均一浓度为  $c_0$ , 上表面维持恒定浓度为  $c_1$ , 基于单纯扩散转移机制的干燥速率可以表述为<sup>[9]</sup>

$$\dot{m} = \frac{2D(c_0 - c_1)}{l} \sum_{n=0}^{\infty} \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D t}{4l^2}\right] \quad (18)$$

式中:  $\dot{m}$  为扩散机制中的蒸气转移速率, g/s;  $D$  为干燥层的质量扩散系数,  $\text{cm}^2/\text{s}$ ;  $A$  为传递面积,  $\text{cm}^2$ ;  $l$  为物料层厚度, cm;  $t$  为所用的时间, s。

方程 (18) 可推导出预期干燥曲线的表达式, 如式 (19) 所示:

$$\frac{M(t)}{M_0} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D t}{4l^2}\right] \quad (19)$$

式中:  $M(t)$  为时间  $t$  干燥物料中所含溶剂总量, g;  $M_0$  为初始可移除的溶剂总量, g。

球形微粒的初始均一浓度为  $c_0$ , 暴露表面维持恒定浓度为  $c_1$ , 其干燥速率和干燥曲线的相应表达式为<sup>[10]</sup>

$$\dot{m} = 8Dr_0\pi(c_0 - c_1) \sum_{n=1}^{\infty} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D t}{r_0^2}\right) \quad (20)$$

和

$$\frac{M(t)}{M_0} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D t}{r_0^2}\right) \quad (21)$$

式中:  $r_0$  为微粒半径。方程 (18) 和式 (20) 说明浓度差是质量迁移的驱动力, 干燥速率随着时间的延长而降低。但表达式在一定程度上夸大了干燥速率降低的程度和对物料层厚度和 (或) 微粒半径的依赖性<sup>[11]</sup>。

总质量迁移包括一系列机制的共同作用, 包括穿过固体空穴和间隙的分子扩散, 沿着断层、晶界和内部孔隙和裂缝表面的迁移, 和通过内部孔隙和裂缝所形成的充满气体的通道的分子扩散<sup>[12,13]</sup>。在物料内部总压强高于周围的实例中, 转运机制包括通过孔隙和裂缝的对流。

上述的两区模型中考虑到复合机制的作用, 支配这些质量迁移操作的规律与之前讨论的支配热传递的规律完全类似。蒸气通过干燥物料层的迁移可以表达为

$$\dot{m} = -D_{\text{eff}} A \frac{dc}{dx} \quad (22)$$

式中:  $\frac{dc}{dx}$  为传递方向上的浓度梯度,  $\text{g}/(\text{cm}^3 \cdot \text{cm})$ 。有效质量扩散率 ( $D_{\text{eff}}$ ) 包括上述所有机制的合并效果。

方程 (22) 可采用蒸气压作为质量迁移的驱动力, 用理想气体的关系式进行重新计算, 可得

$$\dot{m} = -D_{\text{eff}} A \left( \frac{MW_s}{RT} \right) \frac{dp}{dx} \quad (23)$$

式中:  $MW_s$  为溶剂的摩尔分子质量, g/mol;  $R$  为摩尔气体常量,  $62364.1 \text{ mmHg} \cdot \text{cm}^3 / (\text{mol} \cdot \text{K})$ ,  $T$  为热力学温度, K。

采用适当的假设简化方程 (23), 可得类似于方程 (3) 的表达式:

$$\dot{m} = \frac{(p_s - p_i)}{\mathcal{R}_D} \quad (24)$$

式中:  $p_s$ 、 $p_i$  分别为暴露表面和物料内部的蒸气压, mmHg; 且

$$\mathcal{R}_D = \frac{l}{D_{\text{eff}} A} \left( \frac{RT}{MW_s} \right) \left( \frac{p_m}{p} \right) \quad (25)$$

是干燥物料层的有效传质阻力, mmHg · s/g。此处  $p$  为总压力, 且

$$p_m = \frac{(p_s - p_i)}{\ln\left(\frac{p - p_i}{p - p_s}\right)} \quad (26)$$

指的是对数平均分压, 在多组分体系中各组分分压的和等于体系的总压。对溶剂蒸气在空气中的稀混合物而言,  $p_m \approx p$ , 且方程 (25) 右侧的压力比约为 1。

溶剂从干燥物料表面迁移可采用方程 (4) 中热传递类

似的处理方法。对流传质阻力表达式的推导也类似于热阻:

$$\dot{m} = \frac{(p_{\infty} - p_s)}{\mathcal{R}_c} \quad (27)$$

式中:  $\mathcal{R}_c = \frac{1}{h_G A}$  为对流传质阻力, mmHg · s/g;  $\dot{m}$  为蒸气从暴露表面迁移的速率, g/s;  $p_s$  为暴露固体表面温度下的溶剂分压, mmHg;  $p_{\infty}$  为远离暴露固体表面的溶剂分压, mmHg;  $A$  为迁移面积, cm<sup>2</sup>;  $h_G$  为对流传质系数, g/(s · cm<sup>2</sup> · mmHg)。

对流传质系数必须通过实验测定。同样地, 量纲分析可确定那些指导实验设计的具有物理意义的无量纲组。对大部分与制药相关的干燥应用而言, 最重要的无量纲组包括 Sherwood 数 ( $Sh$ )、Schmidt 数 ( $Sc$ ) 和 Reynolds 数 ( $Re$ )。  $Sh$  和  $Sc$  的定义如下:

$$Sh = \frac{h_G L}{D_v} \left( \frac{RT}{MW_s} \right) \left( \frac{p_m}{p} \right) \quad (28a)$$

$$Sc = \frac{\mu}{D_v \rho} \quad (28b)$$

式中:  $D_v$  为通过对流工作液的溶剂的质量扩散系数, 其他参数如前面所述。

动量、热和质量迁移之间的强大相似性使通过对流传热系数计算对流传质系数成为可能。对特定几何形状和流体性质的干燥系统而言, 其关系式如式 (29) 所示<sup>[14]</sup>:

$$\bar{h}_G = \left( \frac{\bar{h}_c}{c_p \rho} \right) \left( \frac{MW_s}{RT} \right) \left( \frac{p}{p_m} \right) \left( \frac{Pr}{Sc} \right)^{0.67} \quad (29)$$

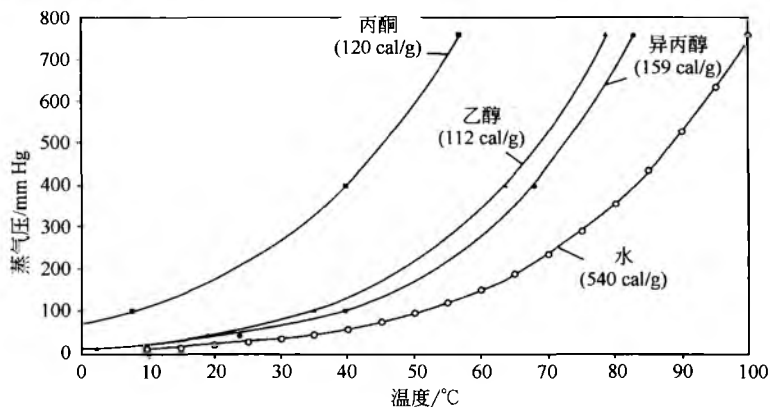


图4 普通溶剂的蒸气压曲线 (括号内为蒸发热)<sup>[16,17]</sup>

某些溶剂加入后会吸附在结晶固体的固态表面, 尤其在低能量位点, 从而引起表面的破坏和不纯。吸附量将增加暴露面积的比例, 并增加表面的溶剂蒸气分压。溶剂也可能通过断层或晶界产生的高度扩散进入晶体的内部<sup>[18]</sup>。一些药用的聚合材料, 如淀粉和纤维素, 常常表现为非晶体或无定形结构。这类材料对溶剂的吸附量显著高于晶型材料, 且吸附量与表面积无关。与物料接触的溶剂蒸气分压越高, 结晶固体的吸附量越大。吸收数据可由实验获得, 且适合于各种可利用的模型, 包括著名的 BET 方程和更为广泛应用的由 de Boer 和 Guggenheim 建立的三态扩展模型<sup>[19]</sup>。Callanhan 及其合作研究者已经收集了相关药

欧姆定律的再次类推, 可构建出质量迁移回路来描述特定的干燥应用。通过图 2 衍生回路的质量流动可用式 (30) 描述:

$$\dot{m} = \frac{(p_1 - p_{\infty})}{\mathcal{R}_T} \quad (30)$$

其中

$$\mathcal{R}_T = \mathcal{R}_D + \mathcal{R}_c \quad (31)$$

在干燥的初始阶段, 物料干燥层的传质阻力很小可以忽略不计, 因为干燥层的厚度开始时为零。此阶段的总传质阻力等于对流阻力。当流速、温度和远离物料暴露表面的溶剂浓度固定时, 这时段的干燥速率恒定。随着干燥过程的进行, 物料干燥层的阻力成为总阻力中的显著部分且随时间增加。这时干燥速率将平稳下降, 即使溶剂压力差保持恒定。

### 3. 相转变

加入至药物材料中的液体溶剂往往处在许多不同的状态<sup>[15]</sup>。例如, 部分凝结或被毛细管力挤入肉眼可见的孔隙和裂缝或进入颗粒间的空隙。假定溶剂的液态和气态的界面除存在着一种局部的平衡, 由凝结的溶剂产生的温度和蒸气压是相互关联的。图 4 显示了几种常见溶剂的平衡蒸气压与温度的关系<sup>[16]</sup>, 括号内为蒸发热<sup>[17]</sup>。在这些常用溶剂中, 丙酮拥有最高的蒸气压, 水最低。水的蒸发热约为常用有机溶剂的 3~5 倍。

用材料的数据<sup>[20]</sup>。

在某些情况下, 水和有机溶剂加入后溶剂分子将整齐地排列到晶格附近, 与溶质分子成化学计量关系, 形成了与原始晶体物质不同的水合或溶剂化的晶体结构。固态检测技术, 如 X 射线衍射, 能检测出这种结构变化。对这些物质而言, 由于未知的或不需要的性质有可能在不经意间产生, 必须要仔细地考虑干燥过程中溶剂附加和移除的影响。在乙琥红霉素的例子中, 研究人员报道了移除结晶水导致晶体结构塌陷形成一种无定形的亚稳态的情况<sup>[21]</sup>。另外, Schilling 和合作研究人员也观察到一种 5-脂肪氧化酶抑制剂在湿法制粒中形成水合物, 而在后续的流

化床干燥过程中回复至理想的无水状态<sup>[22]</sup>。

能量流至水或有机溶剂界面通常有两种形式。第一种是最理想的，它将水或有机溶剂从液态或类似液态转变为气态；第二种是升高界面的温度。从能量平衡的观点考虑能量的分配可以表达为

$$q_t = \dot{m}\Delta h + M c_p \frac{(T_i' - T_i)}{\Delta t} \quad (32)$$

式中： $q_t$  为能量从来源转移到界面的总的速率，cal/s； $\Delta t$  为时间间隔，s； $T_i'$  为时间间隔结束时间点界面的温度，℃； $T_i$  为时间间隔起始时间点界面的温度，℃； $\Delta h$  为溶剂的蒸发热，cal/g； $M$  为界面处湿物料的有效质量，g； $c_p$  为湿物料的热容，cal/(g·℃)； $\dot{m}$  为干燥速率，g/s。

方程 (32) 提示了干燥过程中的干燥速率、热流和温度升高三者之间的关系。如果传质阻力足够小，溶剂蒸气分子就能较容易地从界面逃逸出来，大部分能量将被方程右边的第一项吸收，界面仍能保持低温。该情况普遍发生在干燥循环的初始阶段，因为待干燥物料的传质屏障尚未形成。能量传递的速率通常由进口温度和流体条件固定下来，产生恒定的干燥速率。这部分干燥循环周期指的是恒速期。由于干燥物料层附近产生的蒸气分子不能逃逸出去，导致界面的蒸气压升高。因为根据平衡关系界面的温度和压力是相关的，所以界面温度随蒸气压的增加而升高。越来越多的能量补给从方程 (32) 右边的第一项转移到第二项，进而导致时间间隔内干燥速率的下降和物料温度的升高。这部分干燥循环周期指的是降速期。界面温度越高，

由干燥物料屏障产生的热阻就越高，因此在后续的时间间隔内能量的传递速率减少，如方程 (13) 所示。较高的界面温度部分地补偿了传质阻力增加的效果。

#### 4. 湿空气动力学

干燥过程中产生的溶剂蒸气必须被转运至干燥设备外，否则干燥物料周围的气体将被溶剂蒸气饱和，干燥停止。为了表达干燥气体吸收的溶剂蒸气的量，许多可互变的参数术语被提出来，其中部分被严格定义用于空气-水蒸气系统。但涉及的概念也可以较好地适用于其他溶剂-干燥气体的组合。最常用的参数是相对湿度 ( $\phi$ )，它表示特定温度下水蒸气的实际量与最大可容纳水蒸气量的比值。量可以是任何同一单位的比，单位包括质量、摩尔或气体分压。对于干燥应用而言，最常用的是分压，则相对湿度为

$$\phi = \frac{p_{\infty}}{p_{\text{sat}}} \quad (33)$$

式中： $p_{\infty}$  为溶剂蒸气分压； $p_{\text{sat}}$  为饱和蒸气压。常见溶剂的饱和蒸气压是温度的函数，如图 4 所示。为了计算的简便，饱和数据能用式 (34) 表达：

$$\ln(p_{\text{sat}}) = A + \frac{B}{T} + C \ln(T) + DT \quad (34)$$

式中： $T$  为热力学温度；常数  $A$ 、 $B$ 、 $C$  和  $D$  取决于溶剂<sup>[23]</sup>。根据回归计算所得常用溶剂的推荐常数在表 1 中列出， $p_{\text{sat}}$  单位为 mmHg， $T$  的单位为 K。

表 1 根据方程 (34) 计算所得的普通溶剂饱和压力常数 (单位： $p_{\text{sat}}$  为 mmHg<sup>1)</sup>； $T$  为 K)

溶剂	A	B	C	D
水	70.708 779	-7 175.947 0	-7.906 459 6	0.005 312 511 1
乙醇	-93.710 636	-2 458.5969	20.649 371	-0.039 031 369
异丙醇	-7.459 8754	-5 017.1464	5.737 414 4	-0.015 489 516
丙酮	92.141 422	-6 280.1292	-12.241 911	0.013 701 258

1) 1 mmHg=1.333 22×10<sup>2</sup> Pa。

溶剂含量的另一种表达是比湿度或湿度比，其定义为溶剂蒸气的质量和干燥气体质量的比值：

$$w = \frac{m_v}{m_g} = \left( \frac{MW_v}{MW_g} \right) \left( \frac{p_v}{p_g} \right) \quad (35)$$

方程 (33)~方程 (35) 允许从一种形式转化为另一种形式。例如，已知温度、总压力和相对湿度，则比湿度可以表示为

$$w = \left( \frac{MW_v}{MW_g} \right) \left( \frac{\phi p_{\text{sat}}}{p - \phi p_{\text{sat}}} \right) \quad (36)$$

溶剂含量可以用湿空气动力学图生动地描述出来，如大气压下的空气-水体系，见图 5。利用该图能够方便地转换干燥过程中溶剂含量和跟踪溶剂含量的不同表达式。例如，干燥空气进入干燥器时的温度是 60℃，相对湿度为

0.05 (图 5 中的 A 点)，离开时的温度是 30℃，相对湿度为 0.90 (图 5 中的 B 点)。A 点水平移动与左侧坐标轴相交，显示气体入口处的湿蒸气压为 7.5mmHg，水平移动与右侧坐标轴相交，显示其相对湿度约为 0.006。出口状态 (图 5 中的 B 点) 相对应的相对湿度为 0.024，因此每克干燥空气带出系统的水蒸气量约为 0.018g。露点温度可由从另一途径说明含水量，由含水量 (水平) 线与饱和曲线 ( $\phi=1.0$ ) 的唯一交点获得，如图 5 所示。图 5 还能说明物料温度对质量迁移驱动力的影响。例如，物料在 17.5℃ (图 5 中 C 点) 时，所能提供的溶剂蒸气界面和进口干燥空气之间的驱动力约为 7.5mmHg (15.0~7.5mmHg)。适当地升高温度至 24℃，通过增加溶剂蒸气界面的蒸气压，能使相同进口空气条件的驱动力翻倍。

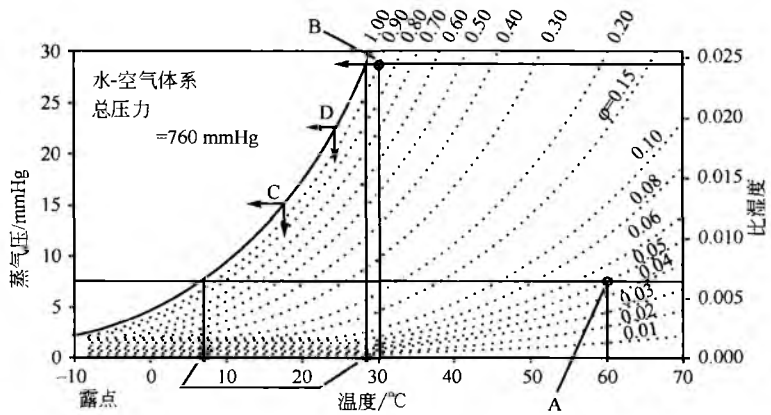


图5 总压力 760mmHg 下的空气-水体系湿空气动力学图

操作

利用商品化干燥设备可顺利地进行干燥操作。制药领域使用的干燥设备根据操作的基本原理，按近期出版的法规指导文件<sup>[24]</sup>分类如表 2 所示。直接加热的设备允许物料和加热能量源（通常为加热气体）直接接触，干燥过程中产生的蒸气由该气体转运至设备外。在间接传导中，能量由加热源（通常为加热液体）通过传导壁转移到物料，产生的蒸气通过其他途径从设备中排出。辐射干燥法不依赖于通过温度产生或转移需要的能量至被干燥的物料中，物料暴露在高频的电磁能环境中，能量将被待除去的目标溶剂所吸收。其他特殊的方法，如喷雾干燥和冷冻干燥，将不在本章中涵盖。

表 2 药物干燥设备的分类

种类	亚类	通用名
直接加热	静止固体床	盘架式干燥器
	活动固体床	带式干燥器
	液化固体床	流化床干燥器
	稀释固体床	喷雾干燥器
间接传导	活动固体床	翻滚干燥器
	汽提	Zanchetta
	静止的固体床	加热层板盘架式干燥器
	冷冻干燥器	冻干机
辐射	微波，活动固体床	微波干燥器

1. 盘架式干燥

历史上最常用的药品粉末干燥法是盘架式干燥。该法将湿粉末或湿颗粒放在衬纸托盘上，通常为实体或穿孔的金属，直接将托盘放在干燥室（烘箱）的支架上，或放在可移动的支架或转向架上，通过轮子运送至烘箱。加热的气流提供热量和相对较低的溶剂蒸气压，干燥空气通过干燥室提供了溶剂转移的驱动力并使溶剂从粉末的微粒表面

移除，结果逐步去除大量粉末中的所有溶剂。

固体干燥工艺可以分为三个干燥阶段，如图 6 所示<sup>[12,25]</sup>。首先是恒速阶段，即干燥的初始状态，物料表面的水分超过临界水平，干燥速率由表面积决定。当湿度水平降低至临界值以下，速率由固体内部的质量迁移控制，此阶段成为第一降速阶段。随着干燥的继续进行，质量迁移为物料表面提供水分的速率不能跟上干燥速率，表面的自由水含量逐渐减为零。此刻表面温度迅速升高，退缩的蒸发前沿将物料分为湿区和干区或吸收区，即为第二降速阶段。在此阶段通过吸收区的水蒸气质量迁移受到越来越大的阻碍。

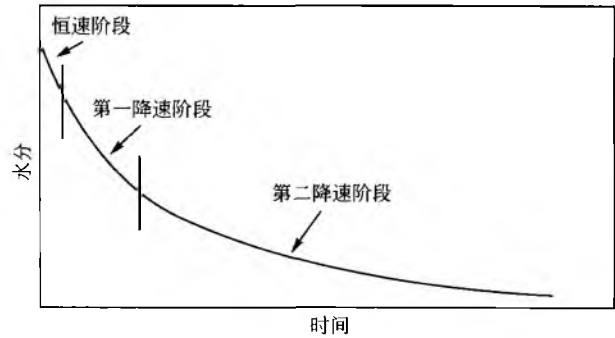


图 6 干燥过程中的相位<sup>[12]</sup>

干燥过程中的降速部分一般可以通过方程 (19) 变化得到：

$$\ln\left(\frac{M(t)}{M_0}\right) = -\left(\frac{\pi^2 D}{4l^2}\right)t + \ln\left(\frac{8}{\pi^2}\right) \tag{37}$$

方程 (37) 可以简化为

$$\ln\left(\frac{M(t)}{M_0}\right) = -kt - 0.2 \tag{38}$$

式中： $k$  为一级干燥速率常数，以  $\ln(M(t)/M_0)$  对时间作图可以得到一条直线，其斜率为  $-k$ <sup>[11]</sup>。这将有利于构建盘架式干燥过程的模型以及评价床厚度和干燥温度改变等变化因素对干燥过程的影响。图 7 给出的例子是通过不同温度所获得的干燥速率常数对温度的倒数作图，便于预测任一插入点温度的速率常数。

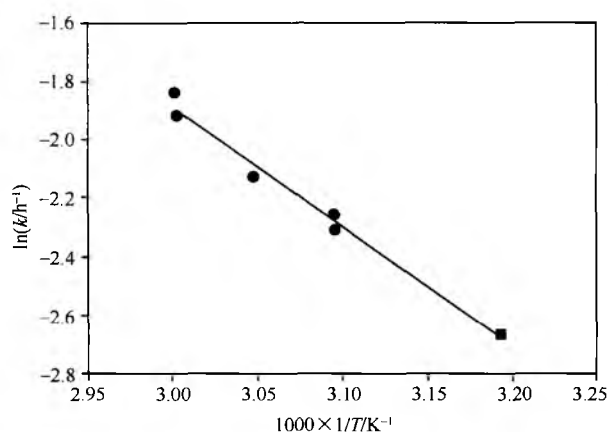


图7 干燥速率常数的温度依赖性 [ $k$  由方程 (38) 计算]<sup>[11]</sup>

干燥过程中, 内部液体通过毛细作用进行转运, 蒸气则通过扩散和压力梯度驱动的质量流动进行<sup>[12,26]</sup>。由于粉体床是静止的, 就整体而言溶剂从粉体床向外扩散的有效阻力降低了干燥速率, 从而限制了该干燥方法的效率。一级速率常数  $k$  依赖于干燥床的深度也证明了这一点。理论上干燥速率常数应该是床厚度平方的反函数 [方程 (37)], 但实验数据显示两者的关系近似为  $k$  与床厚度一次方呈反相关<sup>[11]</sup>。

盘架式干燥还被用来去除软胶囊中的水分<sup>[27]</sup>, 其模型可根据方程 (39a) 构建:

$$\ln(c - c_{\infty}) = -\frac{t}{\Gamma} + \ln(c_0 - c_{\infty}) \quad (39a)$$

其中

$$\Gamma = \frac{h^2}{5.8D} \quad (39b)$$

式中:  $c$  为时间  $t$  时的水分总量;  $c_0$ 、 $c_{\infty}$  分别为零时刻和无穷大时水分总量;  $h$  为胶囊壳的厚度;  $D$  为通过胶囊的水分扩散系数。

当开发软胶囊产品并确定和重现干燥终点时, 该模型非常重要。

虽然盘架式干燥前期设备投资金额相对较低, 但其干燥速率较低, 装载和卸载托盘是一项需要繁重劳力的工作。虽然目前盘架式干燥仍普遍运用于药品生产过程, 但与其他更高效、重现性更好和性能更优越的干燥设备如流化床和真空旋转干燥等相比, 其应用将逐渐减少。

## 2. 流化床干燥设备

流化床干燥是被广泛应用的直接加热型干燥方式。它是采用将待干燥颗粒直接悬浮在加热的空气流或其他气体介质中实现干燥。充分的接触和可利用的高表面积使干燥更快、更有效, 因此流化床是高容量物料干燥的较优选择。

一部典型的流化床设备如图8所示。周围的空气通过右下方的粗滤器进入空气控制单元。空气首先通过一个低温冷凝管以降低水分含量。假定空气离开冷凝管后已和冷凝水达到平衡, 则线圈出口处测定的温度代表了即湿球温

度含水量。制冷剂温度决定了除湿程度, 常用的制冷剂有低温水和冷冻剂。进口处的部分空气通过调风装置转向经过一个加热源后, 与未转向的空气混合, 蒸气线圈通常用作加热源。调风装置由机械控制使一部分流路打开, 另一部分关闭。干燥温度的控制由一个反馈回路调整下游气体温度和调风位置实现。若干燥温度低于设定温度, 则调风装置的位置调整可使更大比例的气体通过加热源, 以升高混合气体的温度。若干燥温度超过设定温度, 则调风装置减少通过加热源的气体比例。这种设计被称为直旁路控制 (face and bypass control), 其优点在于较快的反应时间和最低限度的过冲。除湿加热后的空气进入第二个精密的过滤装置, 被送往干燥器。

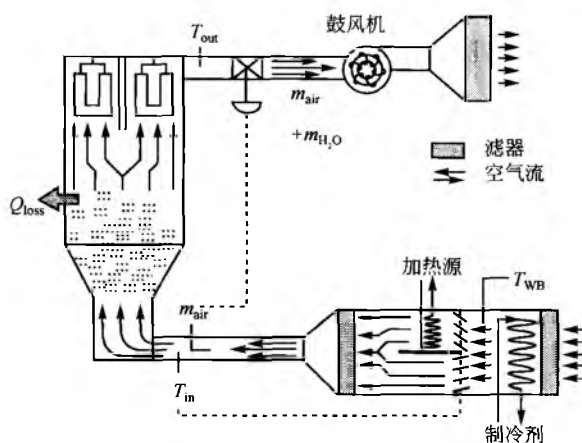


图8 典型流化床干燥装置的结构示意图

待干燥的物料被装在容器内的保护滤网上。滤网可以是金属网孔、穿孔板、鳃板或组合设计。当干燥气体进入容器后, 托起物料颗粒离开保护滤网并形成流动状态。空气将热传给悬浮物料颗粒并带走产生的溶剂蒸气。一小部分干燥空气流提供的热能损失至周围环境中。物料滤网将防止悬浮颗粒被吹离干燥室。一个裂缝滤器设计允许在不中断干燥操作的前提下进行周期性清理。通过一个滤器部分流量可以中止, 以便机械振摇或使清洁空气反向移除蓄积的物料颗粒。之后流量继续, 清理操作可在下一个区段进行。

干燥空气流速控制是通过鼓风机和流量控制阀来实现的。两者均安放在干燥器下游区以保证干燥室处于一个合适的负压状态。因此物料颗粒和有机溶剂蒸气不能从负压梯度中逃逸。空气流速通常在干燥器清洁且干燥的上游区测定, 一个反馈回路也由流量控制阀实现。调节流量控制阀可实现流速控制。在空气被循环回环境时, 必须通过额外的一次过滤去除漏过物料滤器的有药理活性或具有潜在危害的物料。对于含有机溶剂的干燥应用, 必须将有机溶剂蒸气和空气分离后释放回环境。为了控制可能引起的爆炸危害, 设计中集成了接地、牵制和排气对策。

干燥反射罩被设计成右侧循环锥体的倒置平截头体, 小直径的一端在反射罩底部。当干燥空气流经反射罩, 增



加的面积引起气体流速在流动方向上的降低。低流速时,较大、较重的颗粒不能悬浮而落在保护滤网上。这情形表示流体对物料颗粒向外的拉力和颗粒自身重力将其拉回保护滤网之间的张力情况。对球形颗粒在低流速流体中运动,Stockes<sup>[28]</sup>首先测得的拉力等于颗粒重量,从而得出最小流化速率的表达式<sup>[29]</sup>:

$$V = \frac{gd^2}{18\mu}(\rho_p - \rho) \quad (40)$$

式中:  $V$  为最小流化速率,  $\text{cm/s}$ ;  $d$  为颗粒粒径,  $\text{cm}$ ;  $g$  为重力加速度,  $980\text{cm/s}^2$ ;  $\rho_p$  为颗粒密度,  $\text{g/cm}^3$ ;  $\rho$  和  $\mu$  分别为流体的密度和动力学黏度。

严格来说,方程(40)在低  $Re$ , 即颗粒粒径显著小于  $0.01\text{cm}$  ( $100\mu\text{m}$ ) 时有较好的近似值。White<sup>[30]</sup>提供了一系列颗粒粒径最高至  $1\text{cm}$  的处方,并以多来源的数据进行拟合。流化速率与颗粒粒径(微米级)及密度的函数关系如图9所示,降低球形颗粒所处的空气温度为  $45^\circ\text{C}$ ,使用White方程式。典型的商用设备提供的速率在保护筛网处为  $150\sim 250\text{cm/s}$ ,膨胀后降到  $60\sim 100\text{cm/s}$ 。因为颗粒密度在干燥过程中会下降,干燥开始初期使用的流化颗粒床流速在后期可以降低,且在循环中不减少物料携带量。

干燥循环中任意点的干燥速率可以通过仪器操作过程

所提供的信息推导出,不必持续在干燥过程中取样。穿过干燥床周围可控容积的能量平衡如下所示:

$$\dot{m} = \frac{\dot{m}_g c_{p,g}(T_{\text{in}} - T_{\text{out}}) - Q_{\text{loss}}}{h_{\text{fg}}} \quad (41)$$

式中:  $\dot{m}$  为干燥速率,  $c_{p,g}$  为常压干燥气体的比热容;  $\dot{m}_g$  为通过干燥器的干燥气体的质量流动;  $T_{\text{in}}$  为干燥气体的进口温度;  $T_{\text{out}}$  为干燥气体的出口温度,  $Q_{\text{loss}}$  为通过热对流到环境中的热损失;  $h_{\text{fg}}$  为溶剂的气化潜热。

接近干燥循环结束时蒸发反应可以忽略不计,将条件代入方程(41)可以估算热损失。

$$Q_{\text{loss}} = [\dot{m}_g c_{p,g}(T_{\text{in}} - T_{\text{out}})]_{\text{干燥结束}} \quad (42)$$

利用这些条件,  $\bar{h}A$  项可通过下述方程计算,并在干燥循环中保持恒定。

$$Q_{\text{loss}} = \bar{h}A(\bar{T} - T_{\text{amb}}) \quad (43)$$

式中:  $\bar{h}$  为平均对流传热系数;  $A$  为用于热传递的干燥器外部面积;  $\bar{T}$  为干燥床的平均温度,  $T_{\text{amb}}$  为环境温度。

恒定流速为  $2.36 \times 10^6 \text{cm}^3/\text{s}$  ( $5000\text{ft}^3/\text{min}$ ) 的水分干燥实例中温度和计算干燥速率的时间曲线如图10所示<sup>[31]</sup>。该例子中热损失项参数  $\bar{h}A$  为  $17.9\text{cal/s}^\circ\text{C}$ 。干燥早期的前  $30\text{min}$  为恒定速率期,其干燥速率约为  $40\text{g/s}$ 。

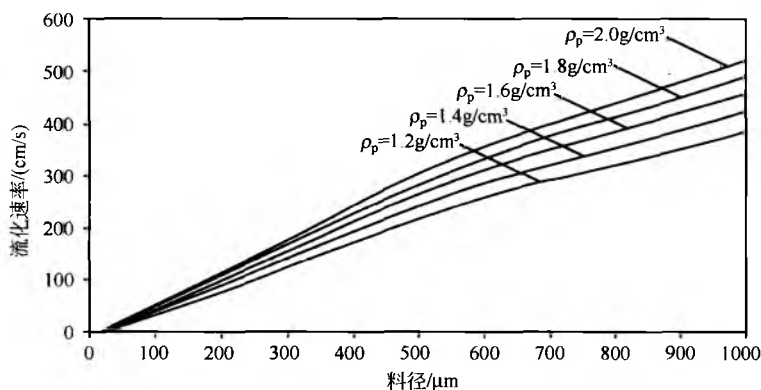


图9 悬浮气流中球形颗粒的流化速率与粒径和密度的函数关系  
(气流温度  $45^\circ\text{C}$ , White 拟合曲线)<sup>[30]</sup>

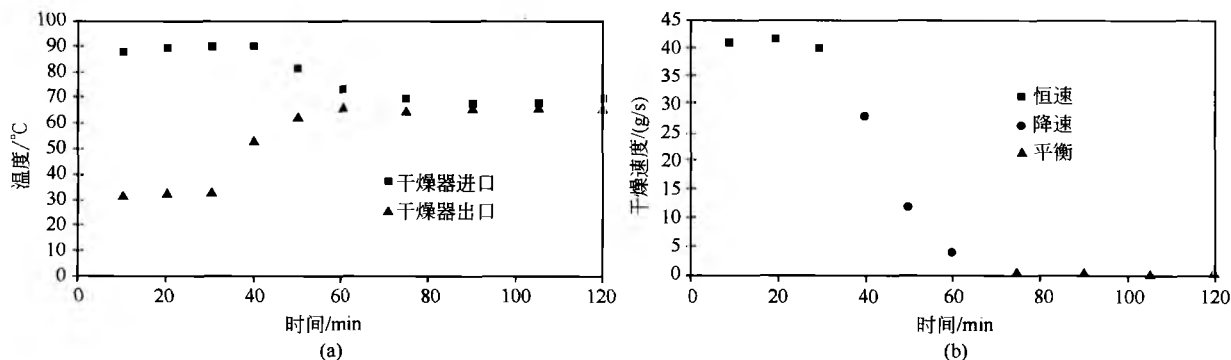


图10 水溶性样品在空气中干燥的温度和干燥速率时间曲线。(a) 温度-时间曲线;  
(b) 计算的干燥速率-时间曲线<sup>[31]</sup>

不同干燥阶段存在不同机制从而使干燥速率受到限制,采用不同的流速和进口温度,能在不增加药品物料不必要应力的基础上,缩短干燥循环时间<sup>[31,32]</sup>。在恒定速率期,干燥速率受限于进口空气的有效焓和吸收产生蒸气的容量,增加流速和进口温度可减少恒定速率期的长度。按一定程序阶段性地降低进口温度和流速不会影响降速期和平衡期的干燥速率,因为内部水分转移限制了整个干燥速率。由于低含水量、低密度颗粒容易流化且更有效除湿技术使进口空气的含水量较低,在平衡期可以使用最低流速。

### 3. 真空干燥

真空装置可应用于所有间接传导和微波法干燥。药品物料周围的总压力减少至干湿界面溶剂的饱和蒸气压以下以产生蒸气。采用适合的真空度,可以在相对较低的物料温度下实现低费用高效率的干燥。真空干燥对热敏感或氧敏感产品特别有利,能减少粉尘爆发,适用于需要回收溶剂或极低溶剂残留的场合。

典型的旋转双锥形真空干燥器如图 11 所示。蒸气通过一个穿过旋转轴密封塞导管转移出干燥器,利用一个滤网装置防止物料颗粒和蒸气一起离开干燥器。真空度可以由常规泵、鼓风机或水泵提供。加热流体通过夹套循环进入和排出旋转轴的动态密封塞。典型的旋转速度为 6~8 r/min。工作容量一般为总容积的 50%, 0.1~10m<sup>3</sup>, 真空度比周围环境低 20mmHg<sup>[33]</sup>。间接方法则采用夹套为湿物料提供能量供应,使干燥速率得到热传递限制。平均干燥速率为 1~7kg/(h·m<sup>2</sup>) 有效热表面积。工作容积越大,夹套面积与工作容积的比越小,因此大设备常采用附加的内部隔板或蛇形管来增加有效热传递面积<sup>[33]</sup>。

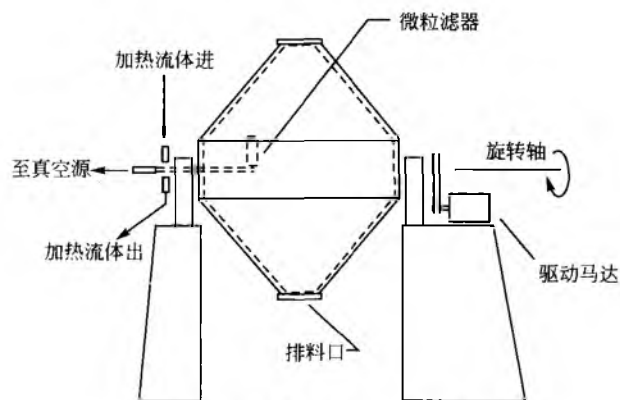


图 11 旋转双锥形真空干燥器

真空干燥可容易地集成至高剪切制粒设计,允许多步骤操作集中到同一设备中,如图 12 所示。制粒过程初始阶段在颗粒床上引入流体并进行高剪切力搅拌,接着真空干燥,典型的真空干燥条件为 18~22mmHg。蒸气通过装有颗粒过滤器的导管从盖子上的特定通道排出。夹套内的加热流体循环典型操作温度为 60~80℃。干燥过程中加入惰性气体汽提(根据容器体积 3~30m<sup>3</sup>/h)以增加蒸气与外

界的对流传递。当汽提速率高于最优水平,由于增加了容器内的压力而使干燥效率降低。商品化设计允许容器可 180°倾斜以增加颗粒和加热夹套壁的接触。微波和红外发生器也可装入以增加热传递速率<sup>[34,35]</sup>。

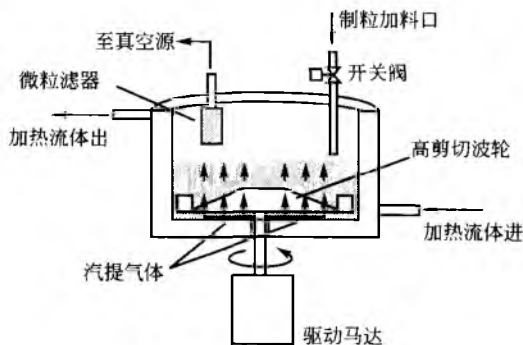


图 12 高速剪切真空处理机

### 4. 微波(高频)干燥

当待干燥的药物体系接触微波能,水及盐溶液等电解质物质将吸收能量而增加分子振动。由于相邻分子间的相互作用,这种运动依次转变成分子间的相互摩擦,从而使溶剂温度升高并最终蒸发,达到干燥的目的<sup>[36]</sup>。与先前讨论的很多传统的干燥方法相比,该法的能量可以传递到微粒内的全部溶剂体积而不是依靠接触表面向微粒或粉体床内部进行热传递。这种能量传递方式可以使颗粒或粉体床中心达到更高的温度,产生一个由物质中心向外层的温度梯度,对于颗粒中心的液态和蒸气物质的转移都有利。颗粒内溶剂的蒸发使得干燥速率由溶剂蒸气的扩散系数支配,而不是液态溶剂的扩散系数,这就可能降低干燥速率中的传质限制。

微波干燥器是一个独立的橱柜,由真空装置、流化床或振动装置与干燥器组合形成,是集混合、制粒与微波干燥于一体的处理器。产生微波的特殊频率为 915MHz 或 2.45GHz,通过波导将微波引入到需干燥的粉体床中。磁控管在产生微波输出信号时需要高压电源和用以除去过热的水冷却。磁控管的输出功率和数量取决于干燥器的尺寸和需干燥潮湿物质的质量。为防止由于产生过热而造成产品损坏,在多数的应用中通过一个传感器来控制仪器的开关。

有些干燥器也能够通过一个套管给粉末提供热能,增加整体的热传递。依靠干燥器的设计,可以通过真空或热空气流化作用的方法除去水分来改善蒸发干燥和水蒸气的质量迁移。图 13 显示了微波流化床处理器的能量输入(W)和一级干燥速率常数的关系<sup>[37]</sup>。

微波干燥的程度和产品所吸收能量的关系可以用公式(44)<sup>[38]</sup>表述:

$$P = 2\pi f V^2 E_0 E_r \tan \delta \quad (44)$$

式中:  $P$  为功率强度, W/m<sup>3</sup>;  $f$  为频率, Hz;  $V$  为电压梯度, V/m;  $E_0$  为真空介电常数,  $8.85 \times 10^{-12}$  F/m;  $E_r$  为

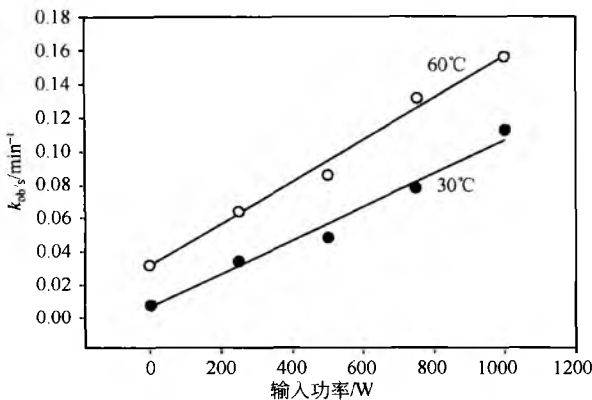


图 13 微波输入功率和入口空气温度对微波流化床干燥的影响<sup>[37]</sup>

被干燥物料的介电常数, F/m;  $\delta$  为损失角 (loss angle, 一种磁波物理性质)。

被干燥物质的介电常数和损失正切 (loss tangent,  $\tan \delta$ ) 的乘积称为损耗因子<sup>[36]</sup> ( $E_r''$ ), 它是物质被微波能加热难易程度的相对标准。

$$E_r'' = E_r \tan \delta \quad (45)$$

一些常用溶剂和辅料的损耗因子见表 3。

表 3 一些普通药用材料的损耗因子比较

材料	损耗因子
甲醇	13.6
乙醇	8.6
水	6.1
异丙醇	2.9
丙酮	1.25
玉米淀粉	0.41
磷酸氢钙	0.06 <sup>1)</sup>
乳糖 (干)	0.02, 0.077 <sup>2)</sup>
乳糖 (15%水分)	0.50 <sup>2)</sup>

1) 参见文献 [34]。

2) 参见文献 [39]。

注: 除说明外均引自文献 [38]。

根据特定成分所具有的能量吸收特性使用微波, 待干燥粉末的组分在干燥过程中起着完全的作用。当微波穿透粉体床, 电场强度由于吸收而减低, 根据:

$$d = \frac{\lambda_r E_r^{1/2}}{2\pi E_r''} \quad (E_r'' \ll 1) \quad (46a)$$

或

$$d = \frac{\lambda_r}{2\pi(E_r'')^{1/2}} \quad (E_r'' \gg 1) \quad (46b)$$

式中:  $d$  为场强为原始值的 37% ( $1/e$ ) 时的深度;  $\lambda_r$  为波长 (如频率为 2450MHz 时 12.3cm)。图 14 为乳糖和淀粉的计算穿透深度。

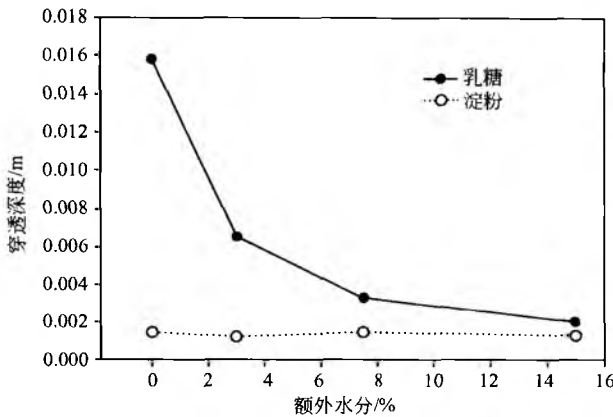


图 14 水分对微波穿透深度的影响<sup>[39]</sup>

由于穿透深度是有限的, 干燥过程中可通过混合来提高干燥的速度和均匀度。干燥过程中物料逐渐失去水分, 介电常数和损失正切也随之改变。因为损耗因子是两者的乘积, 深入了解它们在干燥过程中的性质特点非常重要。例如, 淀粉含水量为 3% 时的损耗因子高于含水量为 7.5% 和 15%<sup>[39]</sup>。

常规干燥技术和微波技术的理论比较结果显示, 在套锅中微波比传导干燥有更高的干燥速率<sup>[39]</sup>, 微波辅助的流化床干燥效果好于单独使用流化床<sup>[40]</sup>。由于增加微波能量减少了干燥时间, 单锅干燥过程中制药粉尘的产生得到降低<sup>[41]</sup>。

受益于干燥过程中能量转移的均匀性和有效性, 微波干燥为普通干燥模式提供了一种颇具吸引力的替代方式。微波设备对药用化合物提供了高度的包封作用 (containment) (尤其是与高剪切力制粒联用), 是一种容易清洗的干燥设备。但是初期投资安装这样的干燥器和主要辅助设备往往是普通应用所支付不起的。虽然如此, 干燥的均一性、时间和劳动力的节省等充足的理由仍然使人们考虑用微波干燥作为一种有效的替代方式。

### 参考文献

1. Rohsenow, W. M.; Choi, H. Y. Heat, Mass, and Momentum Transfer, Prentice-Hall: Englewood Cliffs, NJ, 1961; 94—98.
2. Carslaw, H. S.; Jaeger, J. C. Conduction of Heat in Solids, Oxford University Press: London, 1959.
3. Langhaar, H. L. Dimensional Analysis and Theory of Models, John Wiley & Sons: New York, 1951.
4. Kreith, F. Principles of Heat Transfer, 3rd Ed.; Intext: New York, 1973; 327—372.
5. Whitaker, S. Forced Convection Heat Transfer Correlations for Flow in Pipes, Past Flat Plates, Single Cylinders, Single Spheres, and for Flow in Packed Beds and Tube Bundles. AIChE J. 1972, 18; 361—371.
6. Johnston, H. F.; Pigford, R. L.; Chapin, J. H. Heat

- Transfer to Clouds of Falling Particles. Univ. Illinois Bull. 1941, 38 (43); 16-20.
7. Kreith, F. Principles of Heat Transfer, 3rd Ed.; Intext; New York, 1973; 445-446.
8. Siegel, R.; Howell, J. R. Thermal Radiation Heat Transfer, McGraw-Hill; New York, 1972.
9. Crank, J. Mathematics of Diffusion, 2nd Ed.; Oxford University Press; Oxford, 1975; 47-48.
10. Crank, J. Mathematics of Diffusion, 2nd Ed.; Oxford University Press; Oxford, 1975; 91.
11. Carstensen, J. T.; Zoglio, M. A. Tray Drying of Pharmaceutical Wet Granulations. J. Pharm. Sci. 1982, 71 (1), 35-39.
12. Chen, P.; Pei, D. C. T. A Mathematical Model of Drying Process. Int. J. Heat Mass Transfer 1989, 32 (2), 297-310.
13. Moyers, C. G.; Baldwin, G. W. Psychrometry, Evaporative Cooling, and Solids Drying. Perry's Chemical Engineering Handbook, 7th Ed.; McGraw-Hill; New York, 1997; 31-33, Ch. 12.
14. Kreith, F. Principles of Heat Transfer, 3rd Ed.; Intext; New York, 1973; 596-600.
15. Zograf, G. States of Water Associated with Solids. Drug Dev. Ind. Pharm. 1988, 14 (14), 1905-1926.
16. Weast, R. C., Ed. Handbook of Chemistry and Physics, 70th Ed.; CRC Press; Boca Raton, FL, 1990; D191-D192-D199-D200.
17. Weast, R. C., Ed. Handbook of Chemistry and Physics, 70th Ed.; CRC Press; Boca Raton, FL, 1990; C672-C673.
18. Shewmon, P. Diffusion in Solids, 2nd Ed.; The Minerals, Metals & Materials Society; Warrendale PA, 1989; 191-215.
19. Kontny, M. J.; Zograf, G. Sorption of Water by Solids. Physical Characterization of Pharmaceutical Solids; Brittain, H. G. Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1995; 391-394.
20. Callahan, J. C.; Cleary, G. W.; Elefant, M.; Kaplan, G.; Kensler, T.; Nash, R. A. Equilibrium Moisture Content of Pharmaceutical Excipients. Drug Dev. Ind. Pharm. 1982, 8 (3), 355-369.
21. Bauer, J.; Quick, J.; Oheim, R. J. Alternate Interpretation of the Role of Water in the Erythromycin Structure. Pharm. Sci. 1985, 74, 899.
22. Schilling, R. J. Abbott Laboratories, North Chicago, IL, unpublished.
23. Van Wylen, G. J.; Sonntag, R. E. Fundamentals of Classical Thermodynamics, 2nd Ed.; John Wiley & Sons; New York, 1973; 393.
24. Guidance for Industry, SUPAC-IR/MR; Immediate Release and Modified Release Solid Oral Dosage Forms, Manufacturing Equipment Addendum CMC 9, Revision 1 U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research; Washington DC, 1999.
25. Cooper, J.; Swartz, C. J.; Suydam, W., Jr. Drying of Tablet Granulations. J. Pharm. Sci. 1961, 50 (1), 67-75.
26. Wang, Z. H.; Chen, G. Heat and Mass Transfer in Fixed-bed Drying. Chem. Eng. Sci. 1999, 54, 4233-4243.
27. Carstensen, J. Solid Pharmaceutics; Mechanical Properties and Rate Phenomena, Academic Press; New York, 1980; 149-150.
28. Batchelor, G. K. An Introduction to Fluid Dynamics, Cambridge Univ. Press; London, 1970; 229-235.
29. Prandtl, L. Essentials of Fluid Dynamics, Blackie & Son; London, 1967; 105-106.
30. White, F. Viscous Fluid Flow, McGraw-Hill; New York, 1974; 204-209.
31. Hlinak, A. J.; Saleki-Gerhardt, A. An Evaluation of Fluid Bed Drying of Aqueous Granulations. Pharm. Dev. Tech. 2000, 5 (1), 11-17.
32. Morris, K. R.; Stowell, J. G.; Byrn, S. R.; Placette, A. W.; Davis, T. D.; Peck, G. E. Accelerated Fluid Bed Drying Using NIR Monitoring and Phenomenological Modeling. Drug Dev. Ind. Pharm. 2000, 26 (9), 985-988.
33. Moyers, C. G.; Baldwin, G. W. Psychrometry, Evaporative Cooling, and Solids Drying. Perry's Chemical Engineering Handbook, 7th Ed.; McGraw-Hill; New York, 1997; 65-66, Ch. 12.
34. Duschler, G.; Carius, W.; Bauer, K. H. Single-Step Granulation Method with Microwaves, Preliminary Studies and Pilot Scale Results. Drug Dev. Ind. Pharm. 1995, 21 (14), 1599-1610.
35. Duschler, G.; Carius, W.; Bauer, K. H. Single-Step Granulation; Development of a Vacuum-Based IR Drying Method (Pilot Scale Results). Drug Dev. Ind. Pharm. 1997, 23 (2), 119-126.
36. Köblitz, T.; Körblein, G.; Ehrhardt, L. Careful Drying of Temperature-Sensitive Pharmaceutical Granulates in a High-Frequency Field. Pharm. Technol 1986, April, 32.
37. Doelling, M. K.; Nash, R. A. The Development of a Microwave Fluid-Bed Processor. II. Drying Performance and Physical Characteristics of Typical Pharmaceutical Granulations. Pharm. Res. 1992, 9 (11), 1493-1501.
38. Doyle, C.; Cliff, M. J. Microwave Drying for Highly Active Pharmaceutical Granules. Manuf. Chem. 1987, February, 23-32.
39. Vromans, H. Microwave Drying of Pharmaceutical Ex-

- ipients; Comparison with Conventional Conductive Drying. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1994, 40 (5), 333—336.
40. Wang, Z. H.; Chen, G. Theoretical Study of Fluidized-Bed Drying with Microwave Heating. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2000, 39, 775—782.
41. Kiekens, F.; Cordoba-Diaz, M.; Remon, J. P. Influence of Chopper and Mixer Speeds and Microwave Power Level During the High-Shear Granulation Process on the Final Granule Characteristics. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (12), 1289—1293.

(潘 弘 译)

G

## G

# 工艺放大和产品批准后的变更

Jerome P. Skelly

Consultant, Alexandria, Virginia, U. S. A.

## 引言

在开发一个新药品的过程中,用于初期临床试验的批产量很小。随着Ⅰ期(首次将新化学实体用于人体)、Ⅱ期(发现适应证)、Ⅲ期(确定剂量、副作用等)临床试验的展开,新药的批产量也在逐步增加。当美国FDA批准一份新药申请(NDA),该药品的产量就需要按比例放大,以满足预期市场的需求。相似地,在开发一个已被批准上市的药物的仿制药时,研发单位要先少量地制备一批样品,按已被FDA批准的药品为标准,测试新产品的生物等效性等一系列指标。当仿制药符合FDA的要求时,所递交的简略新药申请(ANDA)或非专利抗生素申请(AADA)才会被批准。然后研发单位也需要对其产品进行工艺放大,以便上市销售。

不管是新化学实体首次上市,还是已上市产品的仿制药的批准,批产量几乎是不可避免地要扩大到生产规模。在放大生产的过程中,免不了要对药品处方(组成)和(或)生产工艺或机器设备进行改进。另外,产品的生产场所可能与小规模(中试)批生产的场所不同。批准后的工艺放大过程和组成、生产工艺、生产设备和生产场所的更改称为工艺放大和批准后变更(scale-up and postapproval changes, SUPAC)。FDA对SUPAC更改发布了多种指导规范,包括《速释固体口服制剂的工艺放大和批准后变更管理规范》(SUPAC-IR)<sup>[1]</sup>、《缓、控释固体口服制剂的工艺放大和批准后变更管理规范》(SUPAC-MR)<sup>[2]</sup>和《普通半固体制剂的工艺放大和批准后变更管理规范》(SUPAC-SS)<sup>[3]</sup>。

虽然工艺放大可能发生在产品生命周期的任何时候,但是最常出现在企业被通知药品已经得到批准后,即该药符合FDA的所有上市条件。递交《最终药品标示文件》后,表明上市产品符合FDA批准上市的条件(对于仿制药,必须是指经三次工艺放大后的产品),并且当地FDA分局对该药的批准前审查全部结束,此时这种产品才被正式批准在美国生产和销售,而SUPAC的相关管理条例也开始生效。

虽然通过实施SUPAC,药品的管理决策权被下放至生产企业,减轻了管理的负担,但是FDA对药品的审查标准却并没有降低。SUPAC的适用范围仅限于工艺放大和批准后变更,即使是科学基础也适用于批准前变更。SUPAC的主要贡献在于显著缩短了对新药实行变更调整的时间。

## 背景

过去FDA一直用生物等效性作为衡量仿制药的临床效果的标准。后来FDA意识到批产量和生产设备的变化会影响药品的生物利用度,因而要求企业在申请ANDA时,用于测试生物等效性的样品应该是“用生产设备、以批生产规模生产的样品”。FDA还没有对这一表述的准确性进行核实,就把它应用于所有ANDA和AADA的审批。但是是一次FDA检察员注意到一家已获ANDA批准的公司,在放大生产时却遇到不小的麻烦。通过检查,FDA发现在生产设备上的生产规模的生产只是在实验室设备上生产的几百剂量单位。虽然该极小批量的样品经测试与原创产品生物等效,但该公司无法放大至批产量数百万剂量单位的上市规模。

FDA立刻颁布了22-90号法规,规定用来测试生物等效性的样品最小批量应为100万剂量单位,或是预期生产批量的10%。无论哪一种,都大得多。尽管这条法规解了燃眉之急,可是它并不科学。为了彻底解决这个问题,FDA采用了过去的方法,即在解决控释制剂<sup>[4,5]</sup>和生物分析方法<sup>[6]</sup>中存在较大争议的方法。FDA就联合美国药剂协会举行公开研讨会,研讨会一共办了三场,与会的都是一流的工业界、学术界专家以及FDA的科学家,他们在一起开诚布公地讨论如何通过科学有效的管理来控制新药的质量,并于会后发布了一致通过的白皮书<sup>[7-9]</sup>。

## SUPAC

一致同意的白皮书的前提是,如果小批量和大批量产品:①原料来源应一致;②原料的粒径应一致(平均值和分布均一致);③辅料应一致;④辅料的粒径一致(平均值和分布均一致);⑤成分添加的顺序应相同;⑥机器设备应相同;⑦生产过程应相同;⑧更重要的是生物等效性测试(溶出度试验)应一致,则两批产品的是相同的。在过去的20年中,FDA生物药剂项目证实了在具体的限定条件下,对于相同的处方、相同的工艺条件和相同的设备,溶出度可以预测体内生物等效性。这个标准成为SUPAC的基本原则(同样,透皮扩散试验也可用于替代非无菌半固体制剂的生物利用度测试)。

为了确定三份白皮书推荐的方法的可行性,FDA根据溶解度和渗透性,选择了几种药物,委托马里兰大学药学院进行研究。研究结果显示研讨会推荐的方法是稳妥可行的。实际上,即使研究显示因主要成分改变而导致较大的

体外溶出差异,体内生物利用度的差异也不明显。因此,FDA 颁发了 SUPAC-IR、SUPAC-MR、和 SUPAC-SS。1999 年 11 月,FDA 扩大了 SUPAC 概念的外延(于当年 12 月修改),使之能够管理包括分析方法、产品包装、标签的更改以及无菌半固体制剂<sup>[10]</sup>。同时这一版 SUPAC 还更新了关于速释、控缓释和普通半固体制剂的内容。特别需要指出的是,多项批准后更改的标准现在相同了,而原先关于它们的表述是有差异的。FDA 现在允许每个固体口服制剂在获得批准后,其多个生产工艺项目可以更改,和对普通半固体制剂的要求相同。

颁布的 SUPAC 指南涵盖了多个层次上的更改,在每个层次上规定了包括:①推荐的化学、制造、控制测试;②体外溶出度试验和(或)体内生物等效性试验;③提交 NDA、ANDA 或 AADA 时关于所作的工艺更改的附件。但 SUPAC 并不影响 FDA 的药品研究和评价中心的审核办公室以及 FDA 现场调查部门要求递交的其他文件。

## 文件

企业必须每年向 FDA 递交药品年度报告。这份年度报告必须包含 FDA 各项法规对开发中的新药以及为了在美国市场上销售批准的活动的的影响。而已获 FDA 批准的新药要做任何的更改也要上交《补充新药申请》,等待重新评审和批准。在 SUPAC 实施之前,所有补充文件都成为“预批准补充文件(PAS)”,但有了 SUPAC 之后,便执行新的“生效的更改补充文件(CBE)”,企业获准在递交补充申请的同时,可以对新药进行适当的改变,这一来,就缩短了 FDA 先前所需的评审时间。另一方面,如果企业的 CBE 申请不符合标准,FDA 仍然有权要求企业按 PAS 执行。在 1999 年 12 月颁布的修订后的 SUPAC 中,新设了一种补充文件申请,称为“30 天之内的 CBE(CBE-30)”,它适用于无菌制剂,因为 FDA 必须对这类制剂进行严格地审查。

## 更改的几个层次

SUPAC 列出了工艺更改的三个层次(图 1):①轻微更改,对药品质量和药效基本不影响;②中等更改,会使药品质量和药效发生明显改变;③重大更改,对药品质量和药效有显著影响。

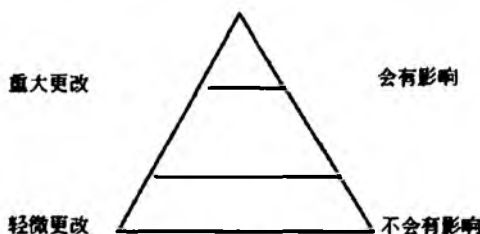


图 1 FDA 批准的产品更改的层次

对轻微更改来说,FDA 要求提交的化学检测只是常规

工作,具体包括药品稳定性的加速测试和长期测试,以及 NDA/ANDA/AADA 要求的其他一些检测。这些数据应当写入下一年的年度报告。而对重大更改,就还要包括药品在多种介质中的溶出度测试和人体生物等效性研究,并且所有检验数据都应以附件形式同申请书一同上交,在正式改动之前必须经 FDA 审核批准。

## 化学、制造和控制测试

针对速释固体口服制剂的化学测试(包括替代的溶出度测试)要考虑药物的治疗指数是否狭窄。化学、制造和控制测试(包括溶出度测试)对于治疗窗狭窄的药物来说要繁复的多。

此外,虽然缓释和控释制剂中非控速辅料组成更改的测试标准和速释固体口服制剂中辅料的测试标准相似,但是对于其他影响药物释放速度的辅料的标准无疑是更严格。

另一方面,对无菌和非无菌半固体制剂来说,仿制药同 FDA 列出的原创标准药的原料和成分的可比性相当重要;但对固体口服制剂则不那么重要。对于半固体制剂,FDA 用多种扩散分析代替溶出度试验来替代体内的生物等效性。

大体上,半固体制剂是有着复杂组成的剂型。通常它们由水、油两相组成,一相为连续相(外相),另一相为分散相(内相)。药物的活性成分总是溶解在其中的一相中。有时药物不能完全溶于基质中,而分散于其中一相或两相,从而组成三相体系。制剂的物理性质取决于多种因素,如分散微粒的大小、界面张力、活性成分在各相中的分配系数、流变学等,这些因素的综合,决定了药物的释放特性和黏度等其他性质。

虽然对一种真溶液而言,成分的添加顺序往往无关紧要,但是对分散制剂就不同了。随着某一关键成分添加至不同的相,主药的分散程度也会发生变化。故而原料的添加顺序至关重要,其中任何的改动都将成为“重大更改”。

经过几年对半固体制剂及其组成的理化测试,如溶解度、粒径、活性成分的晶型、黏性、均匀度的监测,FDA 认为这些参数可以作为重复性指标。FDA 正在用扩散试验(即体外释放速度测试)评估半固体制剂的相似性,从而允许产品一定的 SUPAC,尽管它目前还不像固体口服制剂那样,可以用体外溶出度替代体内生物等效性。

## 稳定性

FDA 要求每个上市药品都是稳定的,在它们上市的有效期中都应达到 FDA 的批准的标准。一般来说,对轻微更改,除了应用法定的化学和生产控制要求(CMC)外,一批药品的长期稳定性试验结果应当写入年度报告中。对中等更改,无论是 CBE 补充申请还是 PAS,都要附上一批产品 3 个月加速稳定性试验的结果。而对重大更改,除了在年度报告中写明一批产品的长期测试的数据,还必须在

PAS申请中附上一或三批样品的3个月加速测试结果,具体几批,取决于该药品上市时间的长短。对于新化学实体,时间为5年,而对于已批准的化学实体的新制剂,时间为3年。如果产品符合该上市标准,则称为“信息真实”,作重大更改时只需提供一批样品的加速稳定性试验结果;反之,则称“信息不真实”,企业必须提供三批样品的加速测试结果。不管怎样,都必须在需要FDA预批准的补充申请(PAS申请)中附上稳定性试验结果。

## 测量药效的替代试验

近30年来,FDA成功地使用“体内生物等效性”替代临床疗效,以开发原创药的新剂型和新规格,以及批准仿制药。而当企业要对已上市药品作重大更改或是对治疗窗狭窄的药品作中等更改时,也必须进行人体“体内生物等效性”试验。对于已经建立体内/体外相关的药品,也可以用体外试验来替代体内生物等效性。

但是对于大部分只作轻微更改或中等更改的药品,FDA用“体外溶出度”来衡量它们的“体内生物等效性”。其中,作轻微更改的药品的溶出标准和原来新药批准时的一样;而作中等更改的药品,FDA总是要求进行更多的体外溶出试验。固体口服制剂究竟采用哪种溶出试验,是由药物的各性质质决定的,包括溶解度、渗透性、治疗窗范围以及剂型。

如果被审核药品符合SUPAC单点溶出标准:即在15min内溶出85%,那么企业就可以对药品工艺作轻微更改,前提是药品的溶解性好(上市的最大规格)和可渗透(生物利用度大于90%)。而那些没通过单点溶出测试的药品,必须通过一项更加繁琐复杂的多点溶出度测试,在该项测试中,每隔15min就要取一次样,直到85%的药品溶出或是溶出曲线逼近渐近线,从而建立溶出速率曲线。缓释制剂应当在水和缓冲溶液中都进行溶出测试。工艺变更前后的药品溶出曲线要具有可比性,如果达到FDA规定的“F-2”相似性测试标准<sup>[1]</sup>,则认为变更前后的结果是可比的;反之就必须进行人体内生物等效性研究或采用体内/体外的相关性。除此之外,延时释药的固体口服制剂应当通过2h酸中溶出测试。

对于半固体制剂的SUPAC变更,FDA用标准开放式扩散池和与人造膜作为体外释放度测试,以替代体内生物等效性,就像用体外溶出度来衡量固体口服制剂的体内生物等效性一样。FDA指导文件推荐将这一测试应用于所有乳膏、软膏以及凝胶剂。在这项测试中,单位膜面积上渗过的药物量( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )与时间的平方根呈线性关系,斜率代表药物的释放速率。FDA要求比较变更前后的释放速率,当二者不具有可比性时,企业就必须进行体内生物等效性试验。

## 附言

SUPAC是药品管理中的一项创举。几乎在整个20世

纪,议会行动增加了企业管理的负担,以回应公认的生产企业的“不负责任的行为”。这样不仅增加药物开发上市的成本,而且也延长了FDA获准上市的时间。在过去20年中,许多人意识到美国在药物开发领域落后了,并且导致美国人民无法得到最新最及时的药物治疗。随着《食品药品现代化法案》的通过,国会允许FDA在确保药品审批效率的同时,雇佣更多的科学家。SUPAC是一次对不断集中的美国药品管理制度的颠覆。它授权企业为自己的举措负责,同时也保证了FDA对药品研发和销售过程的监管力度。

由于FADAMA的出现,FDA已经将SUPAC范围拓展到包括对无菌制剂、分析方法、产品标签和产品包装的批准后更改的管理。

两条对旧版SUPAC指南的重要修订涵盖了多项SUPAC更改的变化,并且对药品“生产场地”重新作了定义。对所有的SUPAC相关法规,现在允许实行多项批准后更改。必须满足的要求变得更加严格,例如有三项一级更改和一项二级更改今后将必须执行更严格的二级标准。

此外,虽然新的想在美国上市药品的外国药品生产企业注册规范已经写入了修订版,但原来的“相同/不同生产场地”的定义对外国生产企业将仍然有效,直至1999年3月14日。而对国内药品生产企业来说,新的法律释义已经生效。对后者来说,“相同场地”被定义为使用同一个药品注册号的新老生产场地,并且无论过去的还是新的生产操作都是经同一个FDA分局核查的。“不同场地”则被定义为使用不同药品注册号的新老生产场地,或生产操作是经不同FDA分局核查的。

## 参考文献

1. Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Scale-Up and Post Approval Changes, Center for Drug Evaluation and Research (CDER); March 1995; FDA Guidance for Industry.
2. SUPAC-MR: Modified Release Solid Oral Dosage Forms: Scale-Up and Post Approval Changes, Center for Drug Evaluation and Research (CDER); Sept 1997; FDA Guidance for Industry.
3. Non-Sterile Semisolid Dosage Forms: Scale-Up and Post Approval Changes, Center for Drug Evaluation and Research (CDER); May 1997; FDA Guidance for Industry.
4. Skelly, J. P.; Barr, W.; Benet, L.; Doluisio, J.; Goldberg, A.; Levy, G.; Lowenthal, D.; Robinson, J.; Shah, V.; Temple, R.; Yacobi, A. Report of a Workshop on Controlled Release Dosage Forms: Issues and Controversies. Pharm. Res. 1987, 4 (1), 75-77.
5. Skelly, J. P.; Amidon, G. L.; Barr, W.; Benet, L.; Carter, J. R.; Robinson, J.; Shah, V.; Yacobi, A. In Vitro and In Vivo Testing and Correlation for Oral Controlled/Modified Release Forms. J. Pharm. Sci. 1990, 79.



- 849—854.
6. Shah, V.; Midha, K.K.; Dighe, S.; Skelly, J.P.; Layloff, T.; McGilveray, I.J.; Viswanathan, C.T.; Yacobi, A. Analytical Method Validation, Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetics Studies. *Pharm. Res.* 1992, 9, 588—590.
  7. Skelly, J.P.; Van Buskirk, G.; Savello, D.R.; Amidon, G.L.; Arbit, H.M.; Dighe, S.; Fawzi, M.B.; Gonzalez, M.; Malick, A.W.; Malinowski, H.; Nedich, R.; Pearce, D.M.; Peck, G.E.; Schwartz, J.B.; Shah, V.P.; Shangraw, R.F.; Truelove, J.P. Scale-Up of Solid Oral Immediate Release Dosage Forms. *J. Pharm. Res.* 1993, 10, 313—316.
  8. Skelly, J.P.; Van Buskirk, G.A.; Savello, D.; Augsburger, L.; Theeuwes, F.; Leeson, L.; Lesko, L.; Barr, W.H.; Amidon, G.; Gonzalez, M.; Malinowski, H.; Berge, S.; Fox, D.; Wheatly, T.; Nixon, P.; Porter, S.; Clevenger, J.; Dighe, S.; Arbit, H.; Pearce, D.M.; Peck, G.E.; Jerussi, R.; Hoiberg, C.; Schwartz, J.; Shah, V.P.; Robinson, J.; Shangraw, R. Scale-Up of Oral Extended Release Dosage Forms. *Pharm. Res.* 1993, 10, 1800—1805.
  9. Van Buskirk, G.A.; Shah, V.; Adair, D.; Arbit, H.M.; Dighe, S.; Fawzi, M.; Feldman, T.; Flynn, G.L.; Gonzalez, M.; Gray, V.; Guy, R.; Herd, A.K.; Hem, S.L.; Hoiberg, C.; Jerussi, R.; Kaplan, A.S.; Lesko, J.; Malinowski, H.; Meltzer, N.; Nedich, R.; Pearce, D.; Peck, G.E.; Rudman, A.; Savello, D.; Schwartz, J.B.; Skelly, J.P.; Vanderlaan, R.K.; Wang, J.C.; Weiner, N.; Winkel, D.; Zatz, J.L. Workshop III Report: Scale-Up of Liquid and Semisolid Disperse Systems. *Pharm. Res.* 1994, 11 (8), 1216—1220.
  10. Changes to an Approved NDA or ANDA, US, DHHS, FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Nov 1999; FDA Guidance for Industry.
  11. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms US, DHHS, FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Aug 1997; FDA Guidance for Industry.

(王恬力 译)

# G

## 共沉淀和熔融

Madhu K. Vadnere

NJ Pharma LLC, Chatham, New Jersey, U. S. A.

### 引言

难溶于水的药物的生物利用度常常受到其溶出速率的限制,而溶出速率往往取决于可供溶解的表面积。众所周知,药物粒子的大小可以影响其溶出速率和生物利用度。例如,Atkinson及其同事<sup>[1]</sup>报告了将灰黄霉素微粉化后,其治疗剂量将减少一半。

减小粒径和增加表面积的常规方法包括研碎、碾碎、球磨、流能微粉化和控制沉淀技术<sup>[2]</sup>。共沉淀和熔融是两种固体分散技术,可降低粒径至分子水平。Sekiguchi和Obi<sup>[3]</sup>在1961年首先引入了固体分散体的概念,用以提高难溶于水的药物的生物利用度。他们证明,与单独服用磺胺噻唑相比,磺胺噻唑和尿素(生理惰性的水溶性载体)的共熔体在口服给药后显示出更高的吸收率和排泄率。近来,固体分散技术的研究已经扩展到缓释制剂的开发。

## 固体分散体的定义和方法

### 1. 定义

Chiou和Riegelman<sup>[2]</sup>将固体分散体定义为“将一种或多种活性成分分散在一种固态的惰性载体或骨架中,一般通过熔融法、溶剂法或溶剂-熔融法制得”。通过熔融处理获得的分散体通常叫做共熔物;通过溶剂方法获得的分散体常常称为共沉淀物或共蒸发物,如磺胺噻唑-异丙嗪(PVP)<sup>[4]</sup>和利血平-PVP<sup>[5]</sup>。

### 2. 制备方法

制备固体分散体的两种基本方法是熔融和共溶剂技术。在这两种方法的基础上进行改进和组合所获得的新方法也已投入使用<sup>[2]</sup>。近来,超临界流体技术也用于制备药用固体分散体<sup>[6]</sup>。

### 3. 熔化或熔融方法

Sekiguchi和Obi<sup>[3]</sup>首次报道了该熔融法:将活性成分和水溶性载体的物理混合物加热至熔融,继而在冰浴和剧烈搅拌条件下将其迅速冷却成固体,然后研碎并过筛。该方法要求固体快速凝固,因为通过瞬时凝固,溶质分子被包埋进入溶剂骨架中,形成了药物的过饱和状态。固化过程可以在与冷却系统相连的不锈钢盘上进行,这样有利于快速移走热量。对喷雾干燥器进行结构改造,使之能喷到冷的金属表面,即进行喷雾冷凝,这种技术也已经投入使

用。这种方法不需要通过磨碎的步骤即能制备出小球状的产品,从而避免了晶型的改变。

因为熔化法不会引入溶剂,所以它的两个好处是操作简单且成本低廉。但是这种方法并不适用于在熔融或蒸发的高温下不稳定的药物或载体。例如,琥珀酸作为灰黄霉素的载体,在熔点附近易挥发或脱水降解,所以灰黄霉素-琥珀酸不适合通过熔化法制备。在真空或填充了惰性气体,如氮气的密闭容器中熔化就可以避免这些问题的发生。通过选择合适的载体系统和组分,二元体系的熔点将远远低于其中任何一个单个组分的熔点。

这种方法其他方面的不足包括制成的固熔体存在过黏和不易处理的特点,并且由于在给定的药物-载体系统的相图上存在相容间隙,容易导致结晶不规则。

### 4. 溶剂方法

Tachibana和Nakamura<sup>[7]</sup>首先使用溶剂方法制备了 $\beta$ -胡萝卜素在PVP中的固体分散体,该过程使用氯仿作为共溶剂。通常,溶剂可以通过在不同的温度下进行减压蒸发而除去。溶剂的种类和移除速率对于分散体的质量至关重要,也可以采用混合溶剂系统。通过这种方法制得的固体分散体包括磺胺噻唑-PVP<sup>[4]</sup>、利血平-PVP<sup>[5]</sup>、脱氧利血平-脱氧胆酸<sup>[8]</sup>、灰黄霉素-PVP<sup>[9]</sup>等。

采用冷冻干燥技术可以从酮洛芬<sup>[10]</sup>和双香豆素<sup>[11]</sup>的氢盐溶液中制备它们在PVP中的分散体。类似的,喷雾干燥技术还可以用来制备对乙酰苯磺酰环己酮-PVP<sup>[12]</sup>和氯噻酮-季戊四醇<sup>[13]</sup>的固体分散体。

与熔融方法相比,溶剂法制备分散体的主要优势是可以避免药物和载体的高温分解。其不足之处包括:制备成本高;需要耗费大量溶剂;溶剂不易完全除去;溶剂残留物可能会导致不良反应;要选择常规的挥发性溶剂;晶型难以重现;除非该系统经历一个高黏相,否则不能获得固相系统下溶质的过饱和溶液。

### 5. 超临界流体技术

在适当的温度和压力下,超临界CO<sub>2</sub>是水溶性和水不溶性化合物的良好溶剂。由于超临界CO<sub>2</sub>无毒、价廉,因此它很有可能在固体分散体的溶剂法工艺中取代常规的有机溶剂。Ferro公司<sup>[14]</sup>开发的工艺包括以下步骤:①将生物活性材料和适当的聚合物置于高压消毒锅中;②在准确的温度和压力下加入超临界CO<sub>2</sub>使聚合物膨胀;③在高压消毒锅中进行机械搅拌;④通过一个由计算机控制的孔对高压消毒锅进行快速降压,以获得希望的粒子的大小。操作中环境温度应较温和(35~75℃),在该温度范围内允许

对酶和蛋白质等热敏性生物分子进行处理。

## 固体分散体的分类

Chiou 和 Riegelman<sup>[2]</sup>将固体分散体分为以下六类：①简单低共熔混合物；②固态溶液；③玻璃溶液和玻璃混悬液；④在结晶载体中的无定形沉淀物；⑤复合物；⑥前面五种类型的组合。多种方法可用于检验固体分散体的物理特征，如热分析法（例如，冷却曲线法、解冻-熔融法、差示扫描量热法）、X射线衍射法、显微镜法、分光光度法、溶解速率法和热力学方法。通常需要多种方法联合使用，才能获得固体分散系统完整的图像。

### 1. 简单低共熔混合物

它们的制备可通过将两种熔融的、完全达到液体互溶但固体-固体的溶解度可以忽略的物质快速固化制备而得。从热力学角度来讲，这种体系是由两种晶体物质组成的均匀的物理混合物。因此，简单低共熔混合物的 X 射线衍射图形是两种物质图形的加和。二组分体系的相图如图 1 所示。这种类型的例子包括非那西丁-苯巴比妥<sup>[15]</sup>、氯霉素-尿素<sup>[2]</sup>、灰黄霉素-琥珀酸<sup>[16]</sup>、扑热息痛-尿素、灰黄霉素和甲苯磺丁脲在聚乙酰-乙二醇（PEG 2000）中的分散体<sup>[17]</sup>等。

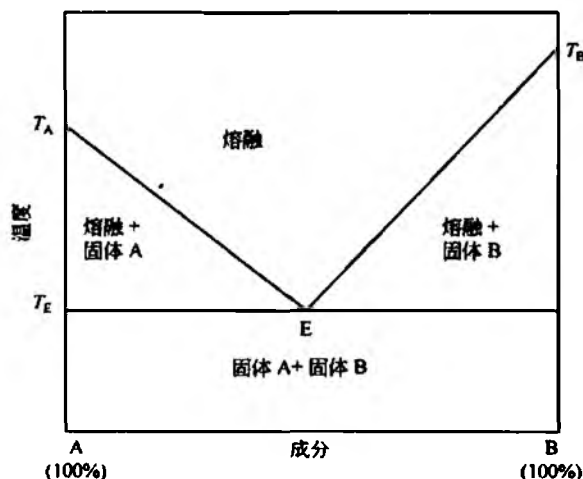


图 1 低共熔混合物的简单二元相图。 $T_A$  和  $T_B$  分别为纯组分 A 和纯组分 B 的熔点，E 为共熔点

### 2. 固态溶液

在固态溶液中，二组分共同结晶于均一的单相系统中。固态溶液中药物粒子的大小和它分子的大小相当。因此，固态溶液比其相应的简单低共熔混合物更易溶出。

固态溶液能按两种方法进行分类。根据两种物质的混合程度，它们可以被分为连续的或非连续的。在连续的固态溶液中，两种物质在固体状态下完全混溶。图 2 和图 3 分别表示了连续和非连续的固态溶液的典型相图。非连续

固态溶液存在于混合组分的极端比例。通常，所有的二组分体系都有一定的固态溶解度。

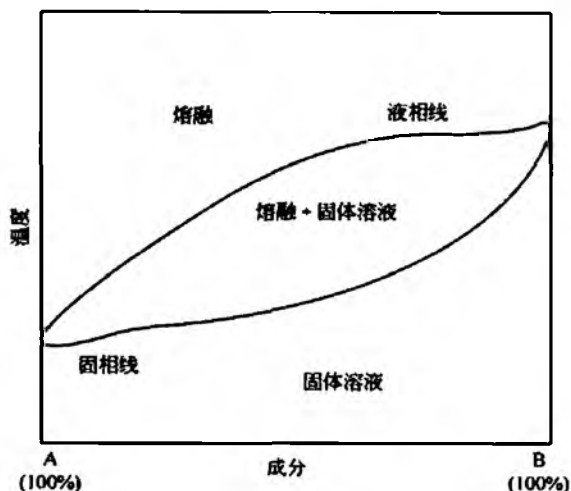


图 2 二元体系 A 和 B 的连续固态溶液的相图

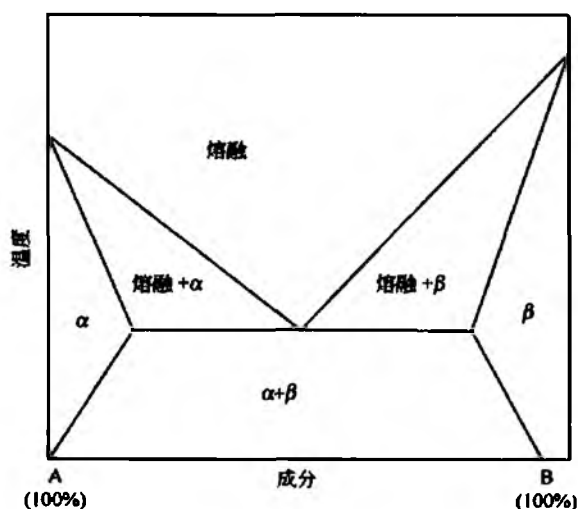


图 3 二元体系 A 和 B 的非连续固态溶液的典型相图。 $\alpha$  和  $\beta$  为固态溶液形成区域

根据二组分的分子大小的标准，固态溶液可以分为置换型和填充型。在置换型中，溶质分子替代晶格中的溶剂分子（图 4）。两种物质分子尺寸的差异不应大于 15%。置换类型包括对二溴苯-氯溴甲烷、萘-萘、硫氰酸铵-硫氰酸钾等固态溶液。

当溶质分子（客）占据溶剂（主）晶格间隙时，就可以得到填充型固态溶液（图 4）。因此，溶质分子的直径应该小于溶剂分子的 0.59 倍，溶质分子的体积应该小于溶剂分子的 20%。聚合物的分子体积较大，因此有利于形成填充型固态溶液。填充型包括洋地黄毒苷、甲基睾丸素、泼尼松龙、氢化可的松在 PEG 6000 的骨架中形成的固态溶液，其溶出速率均较快。

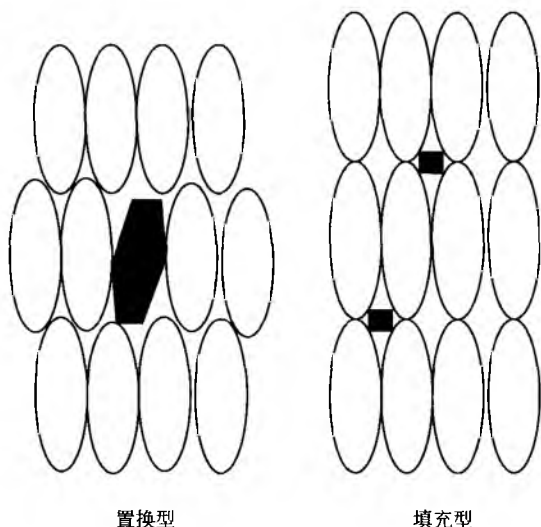


图4 置换型和填充型固态溶液的示意图。深色符号代表溶质原子或分子，空心符号代表溶剂原子或分子

### 3. 玻璃溶液和玻璃混悬液

玻璃溶液是一种均一的玻璃态系统。在该系统中，溶质溶解于玻璃态载体中。玻璃混悬液是一种混合物，在该系统中析出的粒子悬浮在玻璃态的溶剂中。在玻璃转化温度以下时，玻璃态呈透明的并表现出脆性。玻璃态并没有明显的熔点。相反，它们在加热时会逐渐软化。晶格能用来表示快速溶解的壁垒，玻璃溶液的晶格能要远远低于固态溶液的晶格能。图5显示了熔融玻璃溶液冷却时的体积变化。可以形成玻璃溶液和混悬液的载体包括柠檬酸、糖（如葡萄糖、蔗糖和半乳糖）、PVP、尿素和PEG等。

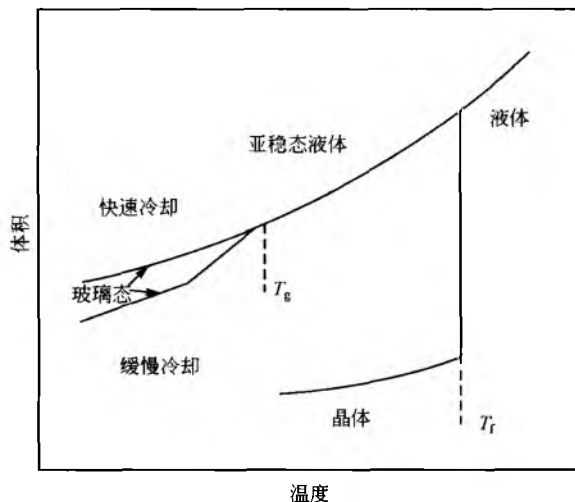


图5 熔融物冷却时的体积变化。 $T_g$ 为玻璃化转变温度； $T_f$ 为物料的熔点

### 4. 在结晶载体中的无定形沉淀物

这种固体分散体与简单的低共熔混合物不同，药物是以一种无定形态沉淀出来的。在简单低共熔混合物中，药物是以一种晶体形式沉淀出来的。其典型例子是磺胺噻唑以无定形态沉淀在尿素晶体中<sup>[3]</sup>。人们推测，具有过冷倾向的药物在载体存在下更趋向于凝固成无定形态。

### 5. 复合物

当两种物质形成一种分子化合物时，通常在相图中会产生峰值。典型例子为图6所示的奎宁-苯巴比妥体系<sup>[15]</sup>。很难概括这种复合物的形成对溶出的影响。地高辛和对苯二酚的复合物有很高的溶出速率<sup>[16]</sup>，然而苯巴比妥和PEG形成的不溶性复合物的溶出速率却降低了，并且苯巴比妥对外翻的大鼠肠的渗透率也降低了<sup>[17]</sup>。

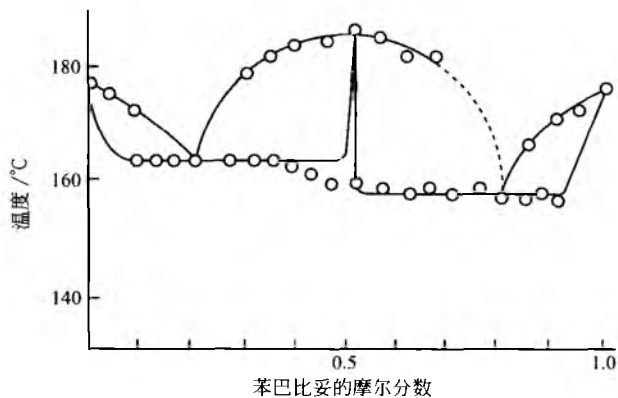


图6 奎宁-苯巴比妥系统<sup>[15]</sup>

## 增加溶出速率的机理

对于纯药物而言，形成固体分散体后其溶出速率的提高程度从2~400倍不等<sup>[18]</sup>。Corrigan<sup>[19]</sup>对当前的固体分散体的释药机理做了一个回顾。固体分散体的溶出速率的增加可以归结于多种因素。从实验角度我们很难指出哪一个特定的因素比另一个因素更重要。这些系统的溶出度提高的主要理由如下：

(1) 粒子体积的减小。在玻璃态、固态溶液和无定形分散体中，粒子体积降到一个最低水平，同时表面积也增加了，所以引起了溶出速率的提高。

(2) 增溶效应。载体材料的溶解可能会对药物的溶解产生增溶作用。例如，尿素系统中的对乙酰氨基酚和氯磺丙脲就存在这种现象，还有许多其他药物也存在这种现象<sup>[20]</sup>。

(3) 润湿性和分散性。载体材料可能会对药物在溶出介质中的润湿性和分散性有促进作用。这可以延缓粒子的凝聚或聚集，而凝聚或聚集能够减慢溶解过程。

(4) 亚稳态。亚稳态分散体的晶格能降低了，这就加快

了溶出速率。人们发现, 呋噻米的溶解活化能是 17 cal/mol (1cal=4.1868J, 下同), 而混合比例为 1:2 的呋噻米-PVP 的共沉淀物的溶解活化能仅为 7.3 cal/mol<sup>[21]</sup>。

## 近年来的进展

Serajuddin<sup>[22]</sup>回顾了近年来在固体分散技术方面取得的进展, 尤其强调了自乳化系统。其可以直接将固体分散体填充进入硬胶囊, 并且得到了具有表面活性和自乳化能力的载体, 这些成果已经重新引起了商业上基于固体分散体开发药品的兴趣。为了易于生产, 载体的熔融物必须像液态物质一样方便地填充进入硬明胶胶囊中。载体的熔化温度不能超过 70℃, 这是硬明胶胶囊所能承受的最高温度。正在开发的用来提高固体分散体生物利用度的两种表面活性载体分别是 Gelucire 44/14 (法国 Gattfosse 公司) 和维生素 E TPGS NF (美国 Eastman 公司)。Gelucire 44/14 是甘油和 PEG 1500 与长链脂肪酸形成的酯类 (月桂酰聚乙二醇甘油酯) 的混合物。后缀 44 和 14 分别指其熔点和 HLB 值。Serajuddin 及其同事指出, 吐温 80 和 PEG 以合适的比例进行组合能形成自乳化系统。

## 缓释固体分散体

近年来, 人们将固体分散体的概念用于不溶性载体材料, 这些系统适合设计缓释剂型。Hasegawa 及其同事<sup>[23,21]</sup>将硝苯地平与阴离子聚合物形成固体分散体, 制备了硝苯地平的缓释剂型, 这些阴离子聚合物包括酞酸羟丙基甲基纤维素和甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯共聚物等。在这类固体分散体中, 硝苯地平呈无定形态, 不溶于胃液 (pH=1.2), 但可以快速溶解在肠液 (pH=6.8) 中, 并呈现出过饱和现象。固体分散体经口服给药进入比格犬后, 硝苯地平表现出了持续的吸收, 具有良好的生物利用度。稳定性研究表明, 在加速条件下, 这些分散体的稳定期不少于 6 个月。地高辛和双嘧达莫<sup>[25]</sup>的分散体与此类似, 吸收延迟, 具有良好的生物利用度, 并且地高辛在酸性介质中的化学稳定性也得到了改善。

Fassihi 及其同事们<sup>[26]</sup>使用了一定比例的亲水性和亲脂性聚合物的混合物来控制释放速率。在茶碱的固体分散体的制备过程中, 使用了不同比例的 PEG 6000、乙基纤维素和丙烯酸/甲基丙烯酸酯来控制释放速率, 因此茶碱的固体分散体可以通过熔融的方法来制备。

Takahashi 及其同事<sup>[27]</sup>发现胶质的阳离子水溶性药物 (如盐酸硫利达嗪) 可以用于制备缓释制剂。

已经有报道说, 扑热息痛、氨基比林、扑尔敏和水杨酸的控释剂型使用丙烯酸树脂 RSPM (Eudragit RSPM) 作为水不溶性载体, 可以通过溶剂方法制备而得<sup>[28]</sup>。Yang 和 Swarbrick<sup>[29]</sup>使用了一种新的方法: 用难溶的药物衍生物作为载体, 以此来制备氨苯砜的缓释固体分散体。

## 载体的选择

载体的性质对被分散的药物的溶出度有重要的影响。为了提高药物的溶出速率, 载体必须满足以下条件: ①具有快速溶出的性质, 并且易溶于水; ②无毒且药理学惰性; ③具有热稳定性, 使用熔融法制备时, 熔点必须低; ④能溶于多种溶剂, 且当使用溶剂法制备时, 溶剂蒸发可经历一种玻璃质的状态; ⑤最好能够增加药物的水溶性; ⑥与药物具有化学相容性, 不能与药物形成强的键合作用。

表 1 列出了一些在固体分散体中可以用作载体的材料。Ford<sup>[30]</sup>的一篇很好的综述介绍了多种载体材料。肠溶性材料可用于对酸敏感的药物固体分散体的制备。在某些情况下, 载体可以联合使用。

表 1 用作固体分散体载体的材料<sup>[19]</sup>

糖类	葡萄糖, 蔗糖, 半乳糖, 山梨醇, 麦芽糖, 木糖醇, 甘露醇, 乳糖
酸类	柠檬酸, 琥珀酸
聚合物材料	PVP, PEG, 羟丙基甲基纤维素, 甲基纤维素, 羟乙基纤维素, 环糊精, 羟丙纤维素, 胶质, 半乳甘露聚糖
不溶性或肠溶性聚合物	酞酸羟丙基甲基纤维素, 丙烯酸树脂 L-100, 丙烯酸树脂 S-100, 丙烯酸树脂 RL, 丙烯酸树脂 RS
表面活性剂	聚氧乙烯硬脂酸酯, Renex, 泊洛沙姆 188, Texafor AIP, 去氧胆酸, 吐温类, 司盘类
杂项	季戊四醇, 硝酸戊四醇酯, 尿素, 乌拉坦, 羟烷基叶黄素

## 固体分散体的优、缺点

固体分散体的优点是溶出速率较快, 从而使药物吸收的速度和程度增加, 并降低了系统前代谢。固体分散体之所以可以降低系统前代谢, 是由于药物生物转化过程中的酶被饱和造成的, 如 17-β 雌二醇<sup>[31]</sup>的固体分散体; 或者通过载体抑制酶的活性, 如吗啡-三硬脂酸甘油酯的分散体<sup>[32]</sup>。这两种情况都能减少所需药物的剂量。其他的优点还包括将液态形式的药物转化为固体形式 (如安妥明和苯甲酰苯甲酸酯可以加到 PEG 6000 中, 得到固体<sup>[33]</sup>), 可以避免出现晶型的改变和由此带来的生物利用度问题 (如奈比隆和 PVP 的分散体<sup>[34]</sup>), 并能通过 PEG 保护某些药物 (如强心苷) 不被唾液降解, 实现药物的口腔吸收<sup>[35]</sup>。

固体分散体的主要缺点与它们的不稳定性有关。随着时间的变化, 几个体系出现了晶型的变化和随着老化溶出速率的降低。例如, 利托那韦的固体分散体的过饱和和溶液析出了结晶, 使 Abbott 公司被迫从市场上召回了利托那韦胶囊 (Norvir)<sup>[36]</sup>。与物理混合物相比, 固体分散体对于由湿度和温度所引起的变质作用更为敏感。一些固体分散体

太黏,这使其不易处理。

# G

## 体内试验概述

迄今为止已发表了一些固体分散体的体内活性研究。Chiou 和 Riegelman<sup>[2]</sup>对包括磺胺噻唑啉-尿素、氯霉素-尿素、利血平-胆酸和灰黄霉素-PEG 在内的固体分散体的体内活性做了综述。其他一些具有代表性的例子概括如下:

- 硝苯地平:已经在狗和人体内对硝苯地平与 PVP<sup>[37]</sup>和肠溶性聚合物<sup>[23,24]</sup>的固体分散体进行了评价。同物理混合物相比,PVP 分散体吸收迅速,生物利用度增加了三倍。肠溶性聚合物制备的固体分散体的血药浓度水平比较平稳。

- 扑热息痛:人们研究了 PEG 20 000 中的扑热息痛的固体分散体随时间的变化对人体生物利用度的影响<sup>[38]</sup>。研究结果发现,在室温下保存了 9 个月的样品的生物利用度降低了。这是由于越来越多的药物结晶析出而造成的。

- 苯妥英:对苯妥英在 PEG 4000<sup>[39]</sup>、PEG 6000<sup>[40]</sup>和 PVP<sup>[41]</sup>中的固体分散体进行了体内评价。同服用苯妥英晶体相比,人体志愿者口服给药后,1:10 的 PEG 4000 分散体的(血浆浓度时间)曲线下的面积(AUC)提高了 4 倍,物理混合物的 AUC 提高了 2.7 倍。对含 40%药物的 PEG 6000 分散体在杂交狗体内进行了评价,并与苯妥英钠进行了比较。虽然在体内苯妥英钠比苯妥英的固体分散体的溶解速度快好几倍,但这两种制剂是生物等效的。Sekikawa 及其同事<sup>[41]</sup>研究了苯妥英-PVP 固体分散体在人体内的吸收情况。研究结果发现,苯妥英-PVP 共沉淀物中苯妥英的生物利用度比单独服用苯妥英高 1.54 倍。

- 呋喃妥因:通过研究药物的累积尿排泄<sup>[42]</sup>,对呋喃妥因的 PVP、PEG 和甘露醇的固体分散体在人体内的情况进行了评价。经研究发现,30min 和 90min 后溶解在酸性介质中的呋喃妥因的量和 12 h 后累积排泄的原形药物的量呈线性关系。同单纯的药物相比,1:4 的药物-PVP 的固体分散体的生物利用度是 239%,1:4 的药物-PEG 6000 固体分散体的生物利用度是 190%,1:10 的药物-甘露醇的分散体的生物利用度是 150%。Stoll 及其同事<sup>[43]</sup>研究了不同的呋喃妥因和呋喃妥因-去氧胆酸制剂的吸收性质。同单独服用药物或物理混合物相比,1:5(质量比)的呋喃妥因-去氧胆酸固体分散体的吸收速度和程度都有明显的增加。

- 双香豆素: Sekikawa 及其同事<sup>[11]</sup>用兔子作为模型评价了双香豆素在 PVP 和  $\beta$ -环糊精中的固体分散体的体内活性。固体分散体给药 4~6 h 后,出现药物峰值,而双香豆素的晶体粉末在给药 2~12 h 后才观察到峰值。服用双香豆素-PVP 固体分散体后,双香豆素的平均 AUC 值(0~48 h)是对照组的 3.31 倍(经溶剂方法制备)和 1.54 倍(经冷冻干燥方法制备)。 $\beta$ -环糊精制备的固体分散体的相应 AUC 值分别是 2.18 倍和 1.72 倍。

- HIV 蛋白酶抑制剂:利托那韦(Abbott 公司的 Norvir)是一种 HIV 蛋白酶抑制剂,在其固体分散体的处方中加入具有表面活性的载体的混合物后,如 Gelucire 50/13、

吐温 80 和聚氧乙烯-35 蓖麻油等,生物利用度显著提高。

## 展望

自固体分散体于 1961 年被引入药学领域后,药学领域对此开展了大量的研究工作,但时至今日只有少量产品得以上市,如 Gris-PEG(Sandoz 公司的灰黄霉素-PEG 固体分散体)、Cesamet(Lilly 公司的奈比隆-PVP 固体分散体)、斯皮仁诺胶囊(Janssen 公司)、依曲康唑-HPMC 固体分散体和 Norvir 胶囊(Abbott 公司)。其余的大多被当作制备方法使用。固体分散体随时间的变化呈现出不稳定性,以及需要大量的载体,这从生理和经济角度限制了它在一些强效药方面的应用,这也使商业上较少使用固体分散体。虽然如此,固体分散体在增加药物的生物利用度和开发控释制剂方面仍然具有巨大的潜力。

在生产领域,必须考虑到如何移除固体分散体(经溶剂法制备)的全部残留溶剂的问题。Hasegawa 及其同事<sup>[23]</sup>发明了一种方法:用药物载体溶液对扁桃(nonpareils)或其他惰性核进行喷雾包衣,通过一步操作获得了多单元剂型的固体分散体。结合市场上已有的粒子包衣设备<sup>[44]</sup>,这种技术的前途一片光明,采用了这种技术的斯皮仁诺胶囊已经在商业上获得成功<sup>[45]</sup>。

过饱和状态溶出不稳定,容易转变为稳定形式,这个问题已经通过加入阻滞剂得到了解决。在消炎痛和氯芬那酸的 PVT<sup>[46,47]</sup>固体分散体中,加入了甲基纤维素作为阻滞剂。Takayama 及其同事<sup>[47]</sup>指出计算机在优化混合物比例方面将大有用途。这个领域有待于进一步开发。

新的制备方法使操作环境更加洁净。例如,Walker 及其同事<sup>[48]</sup>证明了用液态熔化物填充明胶胶囊的可行性,这样做可以避免因研磨所带来的晶型的变化。对于强效药物,这是一个非常诱人的特点。开发新的载体系统的工作将会继续进行。最常用的载体是聚合物,如 PVP 和 PEG。近年来,脂质<sup>[49]</sup>、冻干乳<sup>[50]</sup>和自乳化剂<sup>[22]</sup>也被用作载体。对于新型给药系统的大量研究,肯定会促进固体分散体的使用。已经有相关报道披露了有关缓释的固体分散体的有价值的预研究<sup>[23~27]</sup>。有一项美国专利<sup>[51]</sup>是用生物可降解性聚合物制备环孢菌素的控释制剂,如聚 D,L-丙交酯或聚 D,L-丙交酯和聚 D,L-丙交酯-乙交酯共聚物的混合物。在这个领域将来会有越来越多的商业应用。

## 参考文献

1. Atkinsons, R. M.; Bedford, C.; Child, K. J.; Tomich, E. *Antibiot. Chemother.* 1962, 12, 232-238.
2. Chiou, W. L.; Riegelman, S. J. *Pharm. Sci.* 1971, 60, 1281-1302.
3. Sekiguchi, K.; Obi, N. *Chem. Pharm. Bull.* 1961, 9, 866-872.
4. Simonelli, A. P.; Mehta, S. C.; Higuchi, W. I. *J. Pharm. Sci.* 1969, 58, 538-549.

5. Bates, T. R. *J. Pharm. Pharmacol.* 1969, 21, 710-712.
6. Ye, C.; Frank, S. *AAPS Annual Meeting Abstract*. 1988.
7. Tachibana, T.; Nakamura, A. *Kolloid-Z. Polym.* 1965, 203, 130-133.
8. Malone, M. H.; Hochman, H. I.; Nieforth, K. A. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55, 972-974.
9. Mayersohn, M.; Gibaldi, M. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55, 1323-1324.
10. Takayama, K.; Nambu, N.; Nagai, T. *Chem. Pharm. Bull.* 1982, 30, 3013-3016.
11. Sekikawa, H.; Fukuda, W.; Takada, M.; Ohtani, K.; Arita, T.; Nakano, M. *Chem. Pharm. Bull.* 1983, 31, 1350-1356.
12. Graf, E.; Beyer, C.; Abdallah, O. *Acta Pharm. Technol.* 1982, 8, 225.
13. Bloch, D. W.; Elegakey, M. A.; Speiser, P. *Pharm. Acta Helv.* 1983, 58, 14-22.
14. Ferro Corporation, Independence, Ohio. *Company Literature on Ferro Process™ Using Supercritical Fluid Technology*.
15. Guillory, J. K.; Hwang, S. C.; Lach, J. L. *J. Pharm. Sci.* 1969, 58, 301-308.
16. Bochner, F.; Huffman, D. H.; Shen, D. D.; Azarnoff, D. L. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 644-647.
17. Singh, P.; Guillory, J. K.; Sokolosky, T. D.; Benet, L. Z.; Bhatia, V. N. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55, 63-68.
18. Said, S. A.; Fatatry, H. M.; Geneidi, A. S. *Aust. J. Pharm. Sci.* 1974, 53, 42-45.
19. Corrigan, O. I. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11, 697-724.
20. Roseman, M.; Jencks, W. P. *J. Amer. Chem. Soc.* 1975, 97, 631-640.
21. Shin, S. C. *Arch. Pharm. Res.* 1979, 2, 35.
22. Serajuddin, A. T. M. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88, 1058-1066.
23. Hasegawa, A.; Nakagawa, H.; Sugimoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* 1985, 33, 1616-1619.
24. Hasegawa, A.; Nakagawa, H.; Sugimoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* 1985, 33, 388-391.
25. Hasegawa, A.; Kawamura, R.; Nakagawa, H.; Sugimoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* 1986, 34, 2183-2190.
26. Fassihi, A. R.; Parker, M. S.; Pourkavoos, N. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11, 523-535.
27. Takahashi, Y.; Nambu, N.; Nagai, T. *Chem. Pharm. Bull.* 1986, 34, 327-332.
28. Athanikar, N. *Diss. Abstr. Int. B* 1978 1977, 38 (10), 4740-4741.
29. Yang, T. T.; Swarbrick, J. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75, 53-56, 264-270.
30. Ford, J. L. *Pharm. Acta Helv.* 1986, 61, 69-88.
31. Resetarits, D. E.; Cheng, K. C.; Bolten, B. A.; Prasad, P. A.; Shefter, E.; Bates, T. R. *Int. J. Pharm.* 1973, 2, 113-123.
32. Chang, K. S.; Jarowski, C. I. *J. Pharm. Sci.* 1980, 69, 466-469.
33. Chiou, W. L.; Smith, L. D. *J. Pharm. Sci.* 1971, 60, 125-127.
34. Thakkar, A.; Hirsh, C. A.; Page, J. G. *J. Pharm. Pharmacol.* 1977, 29, 783-784.
35. Halpern, A.; Bradney, C. H. *US Patent* 2, 698, 822, 1955.
36. Abbott to Substitute Norvir Capsules with Liquid Formulation; Abbott Laboratories. 1998; press release, July 29.
37. Sugimoto, I.; Kuchiki, A.; Nakagawa, H.; Tohgo, K.; Kondo, S.; Iwane, I.; Takahashi, K. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1980, 6, 137-160.
38. Vila, J. L.; Vianco, J.; Martinez, R.; Concheiro, A. *Biopharmaceutics Pharmacokinetics, Second European Congress*; Aiache, J. M., Hirtz, J., Eds.; Lavoisier: Paris France, 1984; 353-359.
39. Yakou, S.; Umehara, K.; Sonobe, T.; Nagai, T.; Sugihara, M.; Fukuyama, Y. *Chem. Pharm. Bull.* 1984, 32, 4130-4136.
40. Stavchansky, S.; Gowan, W. G. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73, 733-736.
41. Sekikawa, H.; Fujiwara, J.; Naganuma, T.; Nakano, M.; Arita, T. *Chem. Pharm. Bull.* 1978, 26, 3033-3039.
42. Ali, A. A.; Gorashi, A. S. *Int. J. Pharm.* 1984, 19, 297-306.
43. Stoll, R. G.; Bates, T. R.; Swarbrick, J. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62, 65-68.
44. Mehta, A. M.; Valazza, M. J.; Abele, S. E. *Pharm. Technol.* 1986, 10 (4), 46-56.
45. Gilis, P.; De Conde, M. V.; Valentin, F. V.; Vandercruys, R. P. G. *US Patent* 5, 633, 015, May 27, 1997.
46. Takayama, K.; Nambu, N.; Nagai, T. *Chem. Pharm. Bull.* 1983, 31, 4496-4507.
47. Takayama, K.; Imaizumi, H.; Nambu, N.; Nagai, T. *Chem. Pharm. Bull.* 1985, 33, 292-300.
48. Walker, S. E.; Ganley, J. A.; Bedford, K.; Eaves, T. *J. Pharm. Pharmacol.* 1980, 32, 389-393.
49. Venkatram, S.; Rogers, J. A. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11, 223-238.
50. Macheras, P. E.; Reppas, C. I. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75, 692-696.
51. Zeibun, R. *US Patent* 5,641,745, June 24, 1997.

(陈志明 张小红 译)

## G

# 固体材料的流动性

Stephen A. Howard

Purdue Pharma L. P., Ardsley, New York, U. S. A

## 引言

几乎所有的剂型都涉及固体材料的处理。在所有的产品中,就规模和价值而言,固体剂型是最主要的。固体材料的加工性质是极其重要的,特别是流动性。固体流动性在压片和胶囊填充过程中非常重要,因为这些剂型在制造过程中需要粉末材料从料斗到填充机之间流动,如压片的冲模和胶囊的填充器。质量的均一性取决于粉体均匀快速的流动。在压片和胶囊填充之前固体材料的流动性对粉体的混合和分离也很重要。正如 Von Behren 指出的,受处方流动性影响的工艺步骤包括混合均匀性和流动性,以及质量和压力的设定。生产速度同样受处方流动性的影响<sup>[1]</sup>。Von Behren 指出最终产品的质量、含量均匀度、硬度和崩解/溶出仍然受处方流动性的影响。

不同的工艺步骤需要不同的流动性质,在处方和工艺验证时需要仔细考虑。混合动力学受活性组分物理状态的影响<sup>[2]</sup>。赋形剂的颗粒大小对块醇粉末混合物和片剂的含量均一性有重要影响。随着赋形剂的粒径增大,混合程度下降。赋形剂的自由流动性越好,颗粒的磨损越大,越有利于药物附聚物的崩解<sup>[3]</sup>。在二维分离池中进行的高析研究表明流动性好的材料易分层,而流动性差的粉末混合物不易分层<sup>[4]</sup>。快速流动对于最终产品的质量均一性并不总是有帮助。Hauer 等<sup>[5]</sup>指出非内聚自流粉末的胶囊填充均匀性差,因内聚力低而易从计量盘漏粉。了解工艺和确定优化工艺所需的性质至关重要。

为了保证产品的均匀性,粉体的性质对于原材料、活性成分和辅料的质量控制非常重要。粉体流动性研究促进了处方和工艺设备的科学设计,如加料斗的设计。本章综述粉末材料的流动性。先简要介绍影响固体材料流动性的因素,再介绍流动性的测量。

## 影响固体材料流动性的因素

### 1. 粉末和颗粒的性质

粉体通常被认为是单个粒子通过气固表面的相互作用集合而成的两相分散体系。根据英国标准 2955,如果材料由最大粒径小于  $1000\mu\text{m}$  的干燥单个颗粒组成,就可以认为是粉体<sup>[6]</sup>。粉体与物质的其他物理状态的区别在于其不均匀性,由气体分隔开的不同大小和形状的单个体颗粒组成。粉体与固体的相似处是均表现出弹性回复和脆性断裂。然而与固体不同,粉体在压力下可膨胀或收缩。预处

理可改变材料的性质。作用于粉体的预处理条件和持续时间可决定粉体是否流动和如何流动。在压力下,粉体可像液体一样流动。然而与液体不同,粉体在压力很小时不能流动。当粉体流动时,压力不能决定其流动速率,但压力可以影响液体的流速。为表征颗粒集合体或整体的性质,必须测定组成粒子在气体环境中的总体性质。任何影响组成粒子间相互作用的因素均影响整体材料的固体加工性质。因此,还要考虑与颗粒及其表面性质如大小、形状、表面形态、填充条件和颗粒间作用力有关的因素。更复杂的是,颗粒间作用力可以有多种类型,如机械力、表面张力、静电力、van der Waals 力、固体桥力和塑性结合力等,这些都不易量化。颗粒聚集体的性质和现象有<sup>[7]</sup>:

- 粒度分布和比表面积;
- 粒子形态分布;
- 内聚性、强度和黏着性;
- 填充性(堆密度,孔隙率);
- 填充的速率和可压性;
- 流动性和失效性;
- 离析作用;
- 内摩擦角。

这些因素的综合作用决定了整体材料的性质。

### 2. 颗粒大小和粒度分布

所有物质都存在相互作用。颗粒尺寸的增大和性质的改变可导致作用力的改变。小于  $100\mu\text{m}$  的细粉粒子主要受表面作用力作用。大于  $1000\mu\text{m}$  的颗粒主要受重力作用。因此,作用力的平衡决定粉体的行为。对于相对小的颗粒,由于颗粒间的内聚力作用与重力相当,因此不易流过小孔。由于重力是直径的三次方函数,随着粒径的增加,重力的影响更明显,促进了流动。颗粒相对于流过的孔太大,则会堵塞物料从料斗向模圈或胶囊计量盘流动。关于决定颗粒间相互作用力强度的固体性质已有综述<sup>[8,9]</sup>。

通常大颗粒要比小颗粒流得快。TSI 的 Aero-Flow 手册中乳糖的两种筛分,一种大于  $38\mu\text{m}$ ,另一种小于  $38\mu\text{m}$ ,与未过筛的乳糖进行流动性比较<sup>[10]</sup>。在 Aero-Flow 旋转鼓试验仪中,细颗粒部分流动性最差,大颗粒部分流动性最好,而未过筛的流动性处于两者之间,这与预期结果一致。对于粒度分布宽的颗粒,采用比重测定法(如料斗流出法),密度差异是决定因素,直到细颗粒的内聚力降低流动性。系统研究了颗粒大小和粒度分布对使用平底流量计的流动的影响。增加细颗粒的含量可使流速增大到一个最大值,再继续增大只会导致流速下降。对于给定的细料浓度,当细料直径减小到  $90\mu\text{m}$  时流动速率达到最大值。进一步



减少细料直径只会减少流速。Brown-Richards 方程是描述该系统静态流动的模型。式 (1) 描述流动速率  $Q$  与粉体密度  $\rho_t$  和圆孔直径  $D_A$  之间的关系。

$$D_A = K(4Q/60\pi \times \rho_t \times \sqrt{g})^{1/n} \quad (1)$$

式中:  $K$  和  $n$  为与材料有关的常数;  $g$  为重力。

在乳糖颗粒流动影响因素的类似研究中,发现颗粒的流动速率和小于  $150\mu\text{m}$  (100 目) 颗粒所占的比例之间存在显著的负相关<sup>[12]</sup>。

水杨酸粒径的下降导致内流角  $\Psi$  减小。 $\Psi$  值为衡量内聚性的经验值<sup>[13]</sup>。 $\Psi$  值依赖于水杨酸和乳糖的相对比例和粒径。Geoffroy 和 Carstensen 使用剪切池研究了氯化钠、粒状磷酸氢二钙和羟磷灰石,以考察颗粒大小对剪切池常数的影响<sup>[14]</sup>。他们改进了描述内聚性和内聚性粉体抗张强度之间关系的 Warren-Springs 方程 [见本章“剪切池”部分的式 (5)]。内聚力  $C$  与切向力  $T$  通过式  $C=\alpha T^\beta$  相关,其中  $\alpha$  和  $\beta$  是与所用材料有关的常数。他们还证明了  $\alpha$  与粒径的关系。他们将等式代入 Warren-Springs 方程,以便分析

剪切池数据能更好地解释粒径。

### 3. 形状因素和表面形态

颗粒大小和形状因素是最近许多有关固体材料流动性研究的主题。球形度、圆整度、表面-形状系数、体积-形状系数和表面-体积-形状系数是一些最常用的形状因素。通常认为颗粒形状变得不规则时粉体的流动性下降。寻找不同形状因素和粉体整体行为的关系的研究最近很成功,主要由于形状表征技术和不同形状颗粒物理分类方法的进步。这主要是由于分形几何的应用。

分形几何是由 Mandelbrot 提出的,他在 1983 年的一篇文章中充分描述了分形几何学<sup>[15]</sup>。分形几何通过增加图 1 所示系统的拓扑尺寸分数,从本质上描述了粗糙的线或表面的填充空间能力。Brian Kaye 等发展了 Mandelbrot 的概念来描述粗糙表面形状的粉体颗粒和粉体分布函数<sup>[16-19]</sup>。使用分形几何和混沌理论发展了一种使用旋转鼓的测试方法<sup>[10,18,19]</sup>,该方法将在后文介绍。

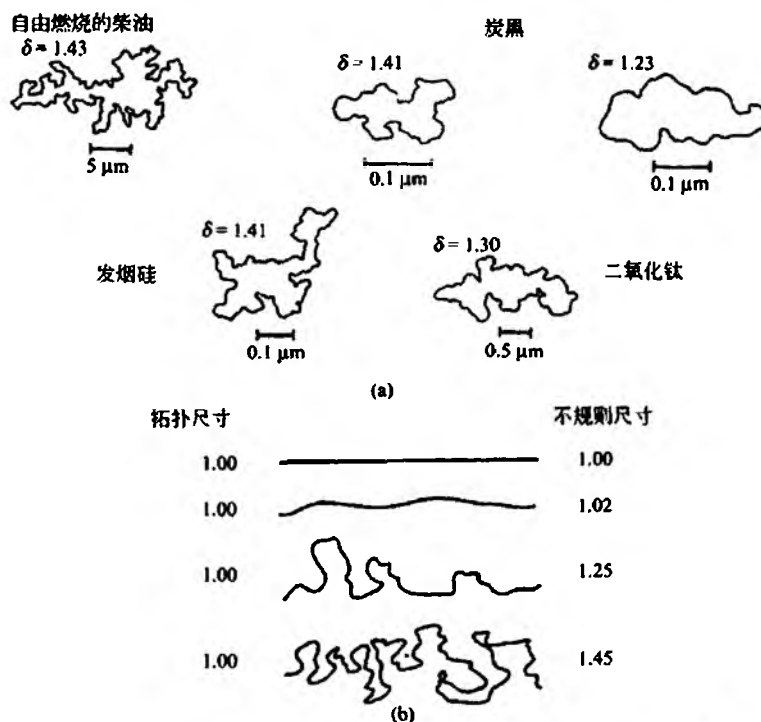


图 1 (a) 烟尘细颗粒的轮廓,不规则尺寸  $\delta$  描述了轮廓的粗糙度; (b) 四条曲线的拓扑尺寸相同,从相应的不规则尺寸可见粗糙程度不同<sup>[18]</sup>

Hickey 和 Concessio 使用振动的刮刀研究了一系列有药用价值的粉体<sup>[20]</sup>。在所有的粉体研究中,质量流动速率随颗粒大小的增大而增大。NaCl 并不展现不规则行为(分形数很低),没有表现出无规则的流动形态。乳糖、色甘酸钠和炭末在低步幅长度出现不规则行为,表现无规则的流动形态。Kaye 在未发表的数据中描述了五种乳糖粉体的崩解行为。尽管颗粒大小相似,不同的乳糖样品表现出不同

的形态和不同的崩解行为。Brittain 使用 Carr 指数检验了无水的和快速流动的乳糖样品<sup>[21]</sup>,结果表明 Fast-Flo 乳糖产生较高的流动能力。他将此归于两种材料的形态和 Fast-Flo 材料的圆边。Cartillier 和 Tawashi 建立了通过过孔流动和休止角测量得到的 7 种不同乳糖粉体的流动性和填充性与颗粒形态的关系,特别是扫描电镜测得的微形态,并以不同的参数(包括分形维度)表达。

发现 5 种不同方法制得的颗粒的休止角主要与表面粗糙程度有关。Hausner 比与沙子的形态学性质有关<sup>[23]</sup>。

混合组分的形状对混合速率和产物的物理稳定性有重要影响。不同颗粒形状的乳糖和碳酸钙在混合器中混合,达到可接受的混合标准偏差  $O_A$  所需的时间,随两种组分颗粒的不规则度而增长。在随后的振动中,包含不规则形状颗粒的混合物离析较少<sup>[24]</sup>。

一些研究证实了形状因素和粉体流动性之间的相关性。如 Carr 法和剪切池法测得的,细粉体的流动性随球度(形状指数  $\Psi$  表征球度,由图像分析仪测得)的增大而增强<sup>[25]</sup>。Huber 等<sup>[26]</sup>推导了一个方程,使流动速率与激光衍射测得的体积比表面积相关。可对单组分、两组分和三组分混合物做合理推测。

#### 4. 水分和静电荷

水分的影响可随粉体的不同而变化极大。固体吸附的水分既可以游离态存在,又能以晶体结构部分存在。它通过改变颗粒的表面性质直接发挥作用。也可通过影响颗粒的形成间接和永久地影响流动性。这些颗粒通过黏合剂的水化和脱水产生的固体桥作用结合。湿法制粒过程可看作是有意使用水分(或其他有机溶剂)控制粉体的流动性。通过测量形成液体桥的粉体的抗张强度可以看出,水分明显影响粉体的流动性。粉体抗张强度的增大导致转矩或耗电功率的增大,并已用于监测湿法制粒过程。高含水量和高填充密度可使液体桥从摆动键变成索状键。水分的作用取决于填充度和粉体床的孔率。对于多孔和内聚性材料,流动性不受水分的影响,因为水分渗透颗粒内部而不形成液体桥。同一批微晶纤维素 NF 置于不同湿度条件下,含水量通过干燥失重测定<sup>[27]</sup>。流动参数通过压缩性指数测定,也使用剪切池测定,而压缩性指数由振实密度测定。含水量增加减小了流动,一旦微晶纤维素的含水量超过 5%,流动性将会变差。微晶纤维素过孔流动速率的差异部分归于影响内聚的含水量不同<sup>[28]</sup>。两种级别微晶纤维素(Avicel PH101 和 Emcocel)的内聚性通过 Sandwich 流变仪测得,含水量为 20%~25% 时达到峰值。含水量低于 30% 时,Avicel® 的内聚性比 Emcocel® 好,高含水量则相当<sup>[29]</sup>。

超低水分会妨碍流动,因为颗粒更容易产生静电。颗粒通常通过碾碎、摩擦和碰撞获得静电荷,即摩擦起电。表面电荷也可通过紧密结合的相异表面突然分开而产生,如过筛、混合、干颗粒通过料斗和传送带。一般赋形剂粉末与金属或玻璃表面接触带负电,而与塑料表面接触带正电<sup>[30]</sup>。大部分药用赋形剂电阻率低,因此通过接地可快速失去静电荷。可通过控制静电的相互作用增强通常不稳定的分离系统的物理稳定性。可通过或不通过持久带电提高物理稳定性<sup>[31]</sup>。

#### 5. 粉末内聚力和存储压缩

储存条件对粉体流动性有很大影响。Marinelli<sup>[32]</sup>最近

的研究认为,粉末(如料箱或加料斗中的固体材料残余物)会变得更内聚和难流动。料斗和料箱的装载量、振动力、存储时间、存储温度和固有内聚力可改变粉末的流动性。人们设计剪切池测量材料在负载下和预处理之后的内聚力。这些测试的本质和过程将在本章后面详述。

#### 6. 温度影响

Jenike 或环状剪切池测得的粉体内聚力随温度的下降而下降<sup>[33]</sup>。这是由于当温度下降时,弹性减小和临近颗粒的表面粗糙度不能形成焊接键<sup>[34]</sup>。同样,蔗糖和脂肪酸粉末的过圆孔流速随温度升高而下降<sup>[35]</sup>。同样对于乳糖和灰黄霉素,随温度的升高,粉体抗张强度提高<sup>[36]</sup>。Pilpel<sup>[37]</sup>在研究流动行为时,注意到同源温度(homologous temperature)是粉体的一个重要性质,决定粉体是否对温度敏感。对于给定材料,其同源温度是热力学温标下测试温度与熔点热力学温度(Kelvin)的比值。如硬脂酸熔点为 343K,在 25℃(298K)测试时,同源温度为  $298/343 = 0.87$ 。Pilpel 发现粉体在同源温度高于 0.9 时流动性变差。因而低熔点材料比高熔点固体流动问题更多。Pilpel 同时指出当粉体在室温下不能流出料斗时,在 -25℃ 就可轻易流出。

### 料斗流动模型

最近 35 年,已广泛研究了料斗和料箱的设计,尤其在采矿业、食品和化工领域。由于这些行业要处理大量的粉末,设计储存和处理材料投资巨大。在 20 世纪 50 年代末到 60 年代初, Jenike 将土壤力学应用于颗粒处理,发展了大量固体材料流动的逻辑理论基础<sup>[38]</sup>。有两种不同的流动形式可以用来描述材料通过料斗的流动,尽管还存在两者之间的系统。当材料在重力作用下流动时,料斗的全部内容物一起流动,材料以先进先出的方式流出。这是质量流的情况。当流动限制在中间区域时,外围区域则相对静止,这种情况称作漏斗流或核心流。另一种情况是,由于凸起和桥接造成流动阻塞,在料斗出口形成一个稳定的拱形[图 2(a)]。对高内聚粉体或设计不好的料斗,开阀时仅阀门上面的材料流出,其余则不流动。这是漏斗流的极端形式,即有名的鼠洞或管道[图 2(b)]。力学结构拱是当颗粒集合以形成石桥的方式形成承重拱时出现的稳定障碍。这种拱可通过增大开口以通过颗粒避免。对于圆锥体,原则是开口为颗粒最大直径的 6~8 倍<sup>[39]</sup>, Jenike 认为是 10 倍<sup>[38]</sup>。更麻烦的拱是内聚拱,由料斗中的材料压紧和内聚形成的。Bates<sup>[40]</sup>定义内聚拱是出口或流动管道处形成的稳定流动障碍,由于材料整体强度超过无限制的失效强度所致,该拱在压力作用下可坍塌。质量流料斗的设计是基于固体材料在槽道中发生重力流动的假设,只要固体固结所产生的屈张力不足以支撑流动障碍。料斗大小的计算基于在静态条件下可能存在于料斗中的加压模式的假设,以流动因子(ff)表示加压模式,是两点最大压力的比值:

$$ff = \frac{\text{储料器中的最大压力}}{\text{自由表面的最大压力}} \quad (2)$$

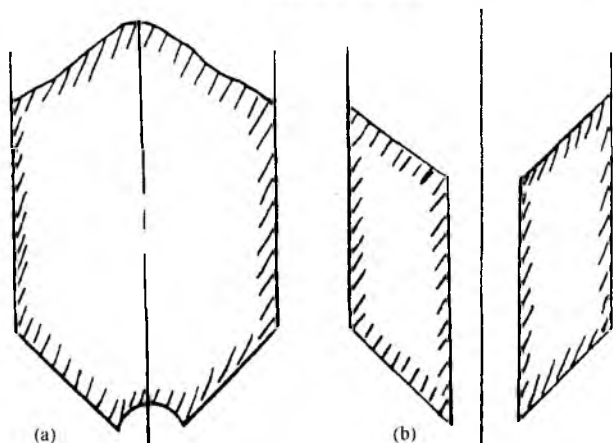


图2 流动模式: (a) 凸起; (b) 阻塞流中的管道或鼠洞

因此,料斗的设计要求在出口处的最大压力要大于粉体材料产生的屈张力。可以通过在同一张  $f_c$  对  $\sigma_m$  图上作出材料的流动函数 (FF) 和料斗的流动因子 (ff) 曲线以比较这两种压力。料斗压力和材料强度相等的点就是临界屈张力。计算料斗的出口尺寸时必须确定临界屈张力。料斗的流动因子可以从 Jenike 描述的图形获得<sup>[38]</sup>和来自本章后面介绍的剪切池测定法。

如果料斗的流动因子大于粉体的流动函数,那么材料就不可能在料斗中形成内聚拱。如果料斗的流动因子小于粉体的流动函数,那么材料有可能在料斗中成拱,甚至是较大出口的料斗。

人们设计了不同的剪切池来辅助获得确定设计质量流料斗、料箱和仓库的必需函数所需的信息,除了粉体的剪切力外,壁摩擦力测定<sup>[41,42]</sup>和可压性<sup>[43]</sup>以及其他一些测定都加入到料斗的设计。本章仅简单涉及料斗设计的理论和试验方法。最近很多不同的文章深入地讨论了这个主题<sup>[44~46]</sup>。各类网站(如 [www.powderandbulk.com](http://www.powderandbulk.com))是这方面最新资料的来源。

Prescott 和 Hossfeld<sup>[47]</sup>写过一篇有关药用料斗设计的文章,主要是关于压片工艺的。讨论了料斗中离析的机理,分析了怎样设计和嵌入料斗以增加流动性的例子,有助于解决这些问题。由于压片和胶囊填充设备的料斗都是专门为该设备设计的,以及在医药工业中同样的设备要处理很多种类的材料,使用嵌入装置可能是相对便宜的解决方案。Bates<sup>[48]</sup>讨论了料斗嵌入装置的使用。Troxel<sup>[49]</sup>讨论了机械增加流动性的方法,如振荡器、空气推进器以及将在下面介绍的化学助流剂。

## 流动增强剂(助流剂)

为了提高粉末和颗粒的流动性,通常会以粉体的形式加入少量的助流剂。常用的助流剂有胶体二氧化硅、滑石

粉和淀粉。已经提出了几个关于助流剂作用机理的假设<sup>[50~52]</sup>:

- 从主体粒子表面分散静电荷;
- 在主体粒子中分布助流剂;
- 优先吸附主体粒子上的空气和水蒸气;
- 将主体粒子物理分离并减小 van der Waals 力作用;
- 助流剂粒子吸附于颗粒的表面从而减小粒子和粗糙

表面的摩擦力。

助流剂对粉末流动性的作用取决于很多因素,如助流剂对粉末的物理和化学吸附、两者的平均粒径和形状,助流剂的浓度和混合的程度以及含水量。为了使助流剂起作用,通常助流剂的粒子应远远小于主粉末的粒子,以便能完全地包在粉末表面,平滑不规则形状,减少粉末间的摩擦力和内聚力。几乎所有的系统都有一个最适宜浓度,超过该浓度助流剂不起作用。如果加得太多,粉末流动性可能会下降,因此必须仔细控制加入量以得到最好的效果。助流剂可能主要起机械作用。它们附着在主粉末的表面,平滑不规则表面,降低其在移动和流动过程中机械互相阻碍的趋势。如果假设助流剂的粒子是球形的,半径为  $r$ ,并均匀地充满了主粉末粒子表面,粉末粒子也假设为半径为  $R$  的球形,那么当混合物中助流剂的含量为  $2\pi r (R + r)^2 100/R^{2/3} \% (w/w)$  时,流动性最好<sup>[53]</sup>。直径为  $100\mu\text{m}$  的粉体需要大约 3% 的直径为  $1\mu\text{m}$  的助流剂,与实验观察结果相一致。助流剂的类型、混合因素和处方性质都会影响公式的可靠性。

二氧化硅胶体已广泛用作助流剂。对四种不同的赋形剂进行了流速、相对密度以及其他有关的测定。加入 1% 的二氧化硅胶体可以增强流动性差的赋形剂的流动性,但是对粒径大和流动性好的赋形剂影响较小<sup>[54]</sup>。增加盐酸氯丙嗪量可以明显减弱各种混合物的流动性。由于加入盐酸氯丙嗪后药物会粘在赋形剂的表面,赋形剂混合物的粒径看起来变大了。加入 1% 的二氧化硅胶体可以抵消药物的不利影响。加入二氧化硅胶体可以减小加入药物引起的粒子尺寸的增大。二氧化硅起效的机理可能是阻止药物覆盖赋形剂,从而减少流动。通过扫描电子显微镜证实了这个结论。在另外一项研究中,二氧化硅的量在 0%~2% 变化,结果显示加入 0.5% 的助流剂可以显著降低从单孔压片机上生产出来的片剂的质量偏差<sup>[55]</sup>。当处方中加入多于 0.5% 的二氧化硅胶体时,片剂的质量偏差不会进一步降低,表明加入 0.5% 的二氧化硅胶体作用最好。最近的文章提到,2% 的二氧化硅胶体可以增加微粉化布洛芬粉末的流动性<sup>[56]</sup>。

硬脂酸镁作为一种润滑剂,也显示出了助流剂的性质。8 种不同粒径和形状的材料剪切池研究显示,加入硬脂酸镁的最适宜量与粒子大小直接相关<sup>[57]</sup>。另外一项研究发现,混合时间和混合机器类型对含有 1% 硬脂酸镁的乳糖的流动性有显著影响<sup>[58]</sup>。这些研究表明,硬脂酸镁作为一个助流剂变得越来越有效。在测定硬脂酸镁的最佳助流浓度时,需要覆盖的表面积、混合的剪切力和时间成为最主要的可变因素。

## G

## 流动性的测定方法

## 1. 过孔流动

在片剂的生产过程中,颗粒首先必须流过一个固定的孔,即料斗的出口,然后流进一个活动的孔,即片剂的模孔。已广泛研究了第一种类型的流动,也就是静态流动。基于 Brown-Richards 方程,式(3)模拟的通过一个直径为  $P$  的孔的静态流,  $W_s$ ,

$$W_s = f(d)P^{n(d)} \quad (3)$$

通常,  $f$  和  $n$  表示函数,  $n(d)$  一般为 2.5。此外,  $n$  也可以表示为粒径  $d$  的函数。Brown-Richards 方程适用的静态流条件如下<sup>[59]</sup>:

- 流速随着粒径的增大而减小;
- 孔径至少大于粒子直径 6 倍;
- 颗粒的高度至少大于孔径 2 倍;
- 孔径和颗粒加料斗的直径之比小于 0.5。

因此在考虑流量计的构造之前,要先仔细考虑流量计的尺寸。举个例子,据 Danish 和 Parrott 报道,直径为 6.0cm 的平底流量计需要直径为 1.428cm、0.925cm、0.635cm 的圆孔、高度超过 18cm 的圆柱<sup>[11]</sup>。一个由可互换附件的计量筒、有输出能力的上皿天平、数模转换器和条带记录仪组成的流量计,用于筛选处方<sup>[60]</sup>。建立了可接受的处方原型标准,包括以  $>200\text{g/min}$  的速度均匀流过一个  $30^\circ$  锥体,以大于  $>2000\text{g/min}$  的速度流过一个 12.7mm 的直孔附件。

一些处方可能流动性太好,需要根据压片机的容量设定上限。

流量计一般可以测定流动性好的粉体的流速。对内聚性材料来说,可以自由流动的最小孔径是更好的流动性指标<sup>[61]</sup>。

已研究了孔流速和粉体材料失效性质的关系。结果表明只有当粉体系统具有足够的黏着力才能产生可测定的固结粉末的抗张强度,而在未知或变化的固结状态下足够自流形成重力流时,流速和张力之间才存在简单的线性关系<sup>[62]</sup>。对流动性稍差的粉末,可以通过振动料斗促进流动以测得流速。

曾经尝试过用活动孔发展流动装置,通过系统几何学消除壁摩擦力的影响<sup>[63]</sup>。当使用不锈钢的圆筒作为主计量筒时,大部分结果是一致的。孔板是可移动的末端,具有不同尺寸的孔。为了给直接压制微片选择最好的赋形剂,使用可互换的孔板。孔板的长度可以变化以维持偏角常数<sup>[64]</sup>。甚至可以测定狭窄孔板的流速。在赋形剂评价中,可以测定其 Carr 指数和 Hausner 比(下面会介绍)。在最近的许多论文中<sup>[65]</sup>,漏斗法用于评价茶碱缓释微片的处方。二氧化硅胶体先加入到不流动的颗粒中,然后开始测定。测定了所有这些处方的休止角。最近十年的很多论文以及已讨论过的那些,使用流速测定法来评价药剂处方和

赋形剂<sup>[66~73]</sup>,几乎所有的都采用计量筒流速测定法和其他测定法相结合的方法,如休止角法和 Carr 指数法。总之,流量计是一个筛选流动性好的粉体和区别材料流动性好坏的实用方法。由于所有的材料可供评价的流动性都不够好,所以流量计法通常和其他方法联合使用来评价处方的流动性。

## 2. 粉末或颗粒性质的经验测定法

很多测试,如抹角、堆密度、紧密度的测定,是相对简单的方法,虽然不是直接测定流动性的方法,但通常可以预测出材料的流动性。这是因为这些结果都高度依赖于粒子的大小和形状以及材料的内聚性,这些均是影响固体流动性的主要变量。现在仍然在日常的制剂开发中进行这些有关流动性的测试,通常与其他测试方法联合使用。

## 3. 休止角和其他操作角

如果将粉体流到平坦的表面上,它就会形成粉末堆。如果一种非内聚性材料流动性很好,易铺展,那么形成的堆比较低。内聚性强的材料堆得比较高,因为它不易铺展。休止角定义为静止状态下粉体堆的自由表面和水平面之间的夹角。药用粉体有两种主要的休止角:倾倒角,是将粉体随意倾倒在平面上形成的堆的角度;流出角,粉体从底部的孔流出时,平底容器中的粉体圆锥表面的角度。粉体的倾倒休止角可以通过仪器测定,一般是将粉体倾倒在平面上并测量形成的粉体堆的角度。标准方法用量角器测定,或控制堆的底部,测定堆的高度(图3)<sup>[74]</sup>。

流出角可以用前面描述过的流动装置测定,该测量受料斗中材料聚集程度的影响。对同一粉体来说,流出角一般大于倾倒角。就像流速受孔的尺寸和粉体粒子大小的影响,流出角也是这样。Pilpel<sup>[75]</sup>证实了壁摩擦力会对流出角的影响,将粉体放置于一个装有平台的大容器内,然后从底部流出,在平台上留下稳定的锥形堆,从而消除了壁摩擦力。Carstensen 等<sup>[76]</sup>证实,支撑面和颗粒之间的摩擦力对平面上颗粒堆的休止角有重要影响。这意味着倾倒角的测定和 Pilpel 装置都受摩擦力的影响。Jones 和 Pilpel<sup>[77]</sup>测试了很多装置,测定的结果高度依赖于装置。在一篇综述文章<sup>[78]</sup>中, Pilpel 认为因为粉体的角度性质依赖于测定的细节,因此测定结果只能用于定性。由于这个原因,剪切池作为一个定量方法已取代了休止角测量来测定粉体的内聚性。

除了流出角和倾倒角,还有其他几个操作角可以利用。将粉体放置在光滑的平面上,找到粉体产生滑动的最小斜面,就得到了粉体的滑动角。滑动角与滑动平面的材质高度相关,这对设计料斗或者运送装置有用<sup>[79]</sup>。另一个已使用的处理角是铲角,用平铲抬高粉末,然后测得形成的粉体堆和铲子平面之间的角度。Carr<sup>[74]</sup>标准化了这个方法,并用其他几个参数表征粉体。将在后面讨论这些特征参数。铲角是一个很简单但很粗糙的表征粉体流动性的方法。近些年也使用一种振动铲,这也将下面讨论<sup>[20,80]</sup>。

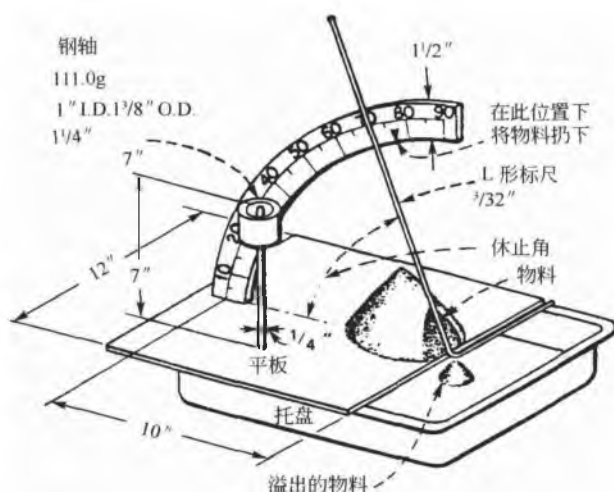


图3 包含量角器、指针和振动装置的休止角平板用于坠落角的测定 (图片摘自 Chem Eng, 1965, 18, 164)

Dahlinder 等发明了一种测定流出角的新装置<sup>[61]</sup>, 它由一个裂开的圆筒组成, 圆筒中包含了一个圆形平台。为了测定休止角, 需要用粉体将圆筒充满, 然后圆筒裂开, 粉体落在平板上成堆。这个装置与 Pilpel 的<sup>[75]</sup>相似, 但采用裂开圆筒引起粉末流动消除了流动过程中的壁摩擦力。Dahlinder 测试了氯化钠、微晶纤维素、阿司匹林、乳糖、玉米淀粉乳糖和氢氧化铝碳酸镁颗粒。随后的休止角测定是可重现的 (误差在 2% 左右)。作者认为这个方法可以用于测定相当黏的材料。Nqvist 和 Nicklasson<sup>[81]</sup>使用 Dahlinder 的休止角装置测试了含有少量活性成分的直接压片的乳糖, 并发现休止角和片重差异系数之间存在线性关系。Nqvist<sup>[82]</sup>发现当测试青霉素颗粒时, Dahlinder 装置不能区分纯药物或颗粒的休止角大小。相反, 环形剪切池数据能预测片剂生产的流动行为。最近, Parrott<sup>[83]</sup>使用倾角测定装置比较了 Soludex, 一种玉米来源的麦芽糖糊精和 9 种赋形剂。他还采用过孔流动, 发现流量计表示的材料流动性要比休止角好。但是, 有几种成分根本流不过孔, 而休止角只能提供研究的 10 种赋形剂的相对值。

Hiestand<sup>[8]</sup>和 Carstensen<sup>[84]</sup>叙述了休止角和粉体的固有内聚力以及摩擦系数之间的关系。如前所述, 对操作的依赖使这种方法远不如剪切池法可靠。此外, 休止角法不像剪切池法那样能定量处理流动过程的压缩力。正如 Pilpe 提到的<sup>[79]</sup>, 角度测定适用于包含大于 100 μm 粒子的自流粉体。这种粉体由于内聚性和张力低, 不能使用更科学的剪切池和抗张强度测定装置进行研究。此外, 粒子固结时会压碎。现在使用的角度测定方法会得到不同的结果, 就像以前的例子提到的那样。经常联合该试验和其他试验提供一个简单、有时也是有用的方法, 测定粉体和颗粒的性质以控制质量。

#### 4. 填充性和堆密度

粉体的堆密度可以用其质量除以所占的体积得到。体

积包括粒子之间以及粒子本身所占的空间。材料的真密度 (即实际固定材料的密度) 可以用比重计测定。粉体的堆密度不像真密度或比重是一个精确的数字, 而是包含很多因素, 如粒子大小、粒度分布、粒子形状、真密度, 特别是测定方法的间接测量。虽然粉体的流动性和堆密度之间没有直接的线性关系, 但后者对确定混合器和料斗的容量十分重要, 还能轻易获得有价值的粉体特性。

##### 4.1 充气堆密度

这是粉体暴露在空气中的堆密度, 也是大多数的流动情况。很多商品化装置可用来获得这个数据。这些装置允许粉末从一定的高度流下来, 通常通过一套筛网流进一个固定体积的容器。多余的粉末从容器的顶部清除, 然后称量去了皮重的容器。堆密度是粉末的质量除以容器的体积。这个装置可以复杂到加入一系列的振动筛或简单到倾倒粉体通过筛网流入去了皮重的量筒中。量筒置于振实装置上, 测定振实堆密度或如 Carr<sup>[74]</sup>所定义的塞满堆密度。轻轻敲打量筒三次, 弄平粉体, 可以得到更均匀的结果。弄平粉体对于其他一些装置可能很关键。作者使用一种称为 Scott 体积计的装置, 粉体在落到立方体容器之前先经过体积计中的一系列玻璃隔板, 清除多余的粉体, 这样可以使粉体和容器的顶端平齐。在测定中发现不同操作者之间有相当大的差异, 这是由于不同的操作者清除多余粉体时用的力不同。这是引起差异的最主要因素。建立的标准滑动片法解决了这个问题。

##### 4.2 振实堆密度

振实堆密度是指用遵循指定程序的轻敲或振动后结实粉末的堆密度。有很多机器可用于测定振实堆密度。一些采用固定体积的粉末, 也有一些采用固定质量的粉末。以一定的频率敲击固定的次数, 使样品下降设定的距离。也可用已知频率的振动器压紧粉体。Neumann<sup>[85]</sup>在 1953 年发明了一个简单的装置<sup>[85]</sup>, 见图 4。它采用一个切割凸轮, 凸轮每转一圈, 粉体准确下降 1cm。可以设定振实装置在振动一定次数后停止并测定粉体体积。通常拍打或振动样品直至达到平衡体积, 平衡时测定最终的振实堆密度。振实堆密度比率也可通过这种方式测得, 拍打一定次数或振动一定时间后记录密度, 重复这个过程, 直到体积不再改变。

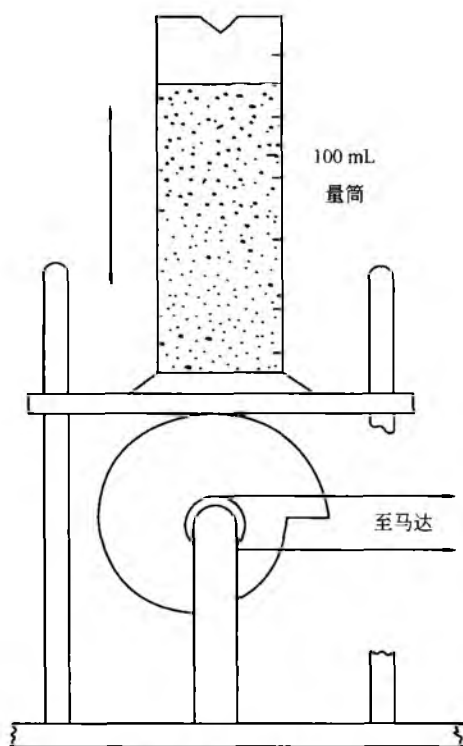
##### 4.3 密度和流动性

Carr<sup>[74]</sup>报道, 材料在振实密度实验中压得越紧, 流动性越差。他定义了压缩系数  $C$

$$C(\%) = 100(P - A)/P \quad (4)$$

式中:  $P$  为指最终振实堆密度;  $A$  为充气堆密度。

更常用的量是 Hausner 比, 为  $P/A$ , 最终振实堆密度除以充气堆密度。这个比值是 Hausner 在 1967 年用来表征金属粉体的<sup>[86]</sup>, 但今天更多地用于药用粉体。Hausner 比越高, 流动性越差。Neumann<sup>[52]</sup>报道, 压紧比越高 (较少

图4 振动装置<sup>[85]</sup>

振动即达到平衡), 流动性越好, 他也是用重物压紧粉末。他描绘了给定质量粉体的相对体积的对数对所用质量的对数的曲线图。Chowhan 和 Chow<sup>[87]</sup>用改良的 Neumann 装置, 将松散填充的粉末和粉末混合物装入圆筒, 再在粉末表面施加一系列的负荷。他们用不同的赋形剂测试了一种药物, 并以相对体积的对数和使用的相对质量的对数作图, 得到一条直线, 并把相对体积轴上的截距叫做粉体压紧比。这个值与 Zanasi 胶囊填充机填充胶囊的质量变化呈线性关系。

Varthalis 和 Pilpel<sup>[88]</sup>推导出了乳糖和扑热息痛或乳糖和土霉素的抗张强度和填充比的关系<sup>[88]</sup>。从这个关系中他们得到了一个衡量粉体流动性和填充性的标准, 称为内流角。这是一个经验衍生参数, 表示填充后堆密度的变化率。Newton 和 Bader<sup>[13]</sup>将这些参数和阿司匹林及乳糖的胶囊装量联系起来。尝试建立和阿司匹林体外释放度的联系, 没有获得成功。在最初的有关用非离子表面活性剂包裹乳糖的一系列文章中, Sakr 和 Pilpel<sup>[89]</sup>用振实堆密度解释了表面包裹的影响。Yamashiro 等<sup>[90]</sup>用很短的拍打间隔(拍打一两次后即测定)来试验一个方程, 表明拍打的次数除以拍打后的粉体相对体积与拍打次数线性相关。当这个关系成立时, 材料的流速有可能和比例常数有关。

总之, 振实堆密度法是一个方便而又快速的表征材料的方法。粉体的流动性和压紧程度间存在一个严格的经验化关系。从这个角度看, 振实堆密度可能是一个有用的测量参数。

## 分类系统

Carr<sup>[74]</sup>在 1965 年提出了一个已广泛用于药用粉体和颗粒的分类表征系统<sup>[74]</sup>。这个方法为点值系统, 四个因素权重相同, 每个因素最大值为 25 点, 流动性极好的材料为最大值 100 点。第一个要测定的是休止角, Carr 使用的仪器示意图和关于休止角的讨论很早就出现了(图 3)。Carr 认为测定接触角是一个简单的方法, 可以间接测定以下几个影响流动性的因素: 形状、大小、孔隙率、内聚力、流动性、表面积和堆密度。第二个因素为压缩系数, 在前面讨论过, 可以从振实密度获得。Carr 用式(4)定义了压缩系数, 并声称压缩系数可以很好地间接表示大小和形状的均一性、可变形性、表面积、内聚力和含水量。

Carr 表征系统中的第三个因素是铲角。如前面所提到的, Carr 设计了一种测量铲角的特殊方法。铲角可以间接衡量内聚力、表面积、大小、形状、均一性、流动性、孔隙率和可变形性。

最后的因素是内聚力或均匀系数。内聚力用于可测定有效内聚力的粉体(十分细小的颗粒)或材料, 而均匀系数用于不能测定有效表面内聚力的颗粒和粉体材料。

测定表观表面内聚力的过程包括测定底盘上的 250 $\mu\text{m}$ (60 目)、150 $\mu\text{m}$ (100 目)和 74 $\mu\text{m}$ (200 目)筛网上滞留的材料。推荐将 2g 要测试的粉体放在 250 $\mu\text{m}$ (60 目)的筛网上, 然后振动筛网 20 ~ 120s。称定留在每个筛网上的材料量并用点或百分比表示。按照以下的方法计算: 在 250 $\mu\text{m}$ (60 目)的筛网上每 0.1g 相当于 5 点或 5%; 在 150 $\mu\text{m}$ (100 目)的筛子上每 0.1g 相当于 3 点; 在 74 $\mu\text{m}$ (200 目)的筛网上的每 0.1g 相当于 1 点。如果材料全部通过了 74 $\mu\text{m}$ (200 目)的筛子, 内聚力就是零。一些粒子的静电引力和小粒子有黏附到大粒子的趋向会使结果产生偏差。为了进行这个测试, 粒子必须是 74 $\mu\text{m}$ (200 目)的材料。

均匀系数用通过 10%样品的筛网孔径来划分。通过筛分材料进行测定。粒子的大小和形状越统一, 流动性可能就越好。

表 1 给出了评价干燥固体材料流动性的点数。为了用这个方法测定粉体的流动性, 进行的每个实验都可以从表格中找到相应的点数。根据总点数将样品归入表格左栏的七个种类之一。由于测试简单, 可获得进行这些试验的商品化装置(ASTM 测试 D6393-99), 这个系统广泛用于制药工业的处方前、处方研究和质量控制。

其他的分类系统用得比较少。Carr<sup>[74]</sup>也发明了一个根据材料的可浸性(floodability)分类的系统。他把材料的可浸性定义为固体在空气的自然流化作用下像液体一样流动的趋向。为了这样给材料分类, 用刚才描述过的方法测定流动性。这个值相当于 Carr 的坠落角、差分角和可分散性。虽然此处提及的任一文章均涉及这种系统, 但这种流动性测定方法还是很少使用。Geldart 报道了一种基于充气

能力的粉体表征系统<sup>[91]</sup>，后来 Molerus<sup>[92]</sup>改进了这种系统。在最近的专题讨论会中，讨论了这种粉体分类方法<sup>[93~95]</sup>。

正如在本章前面提到的，Carr 指数和其他一些经验方法如 Hausner 比继续在使用，通常和其他一些方法联合使用来表征和预测药用赋形剂和处方的流动性。除了本章已讨论的论文外，在最近的药学文献中又出现了很多论文，在这些论文中使用这些方法对药用粉体的流动性进行归类<sup>[93~101]</sup>。糖类赋形剂<sup>[96]</sup>、颗粒状拉克替醇<sup>[101]</sup>、 $\beta$ -环糊精微晶纤维素混合干粉<sup>[100]</sup>和各种硅酸盐粉末（如斑脱土）<sup>[97]</sup>，可通过 Carr 指数测定方法表征其特性。对于硅酸盐粉末，作者强调料斗的流动值由于极高的标准偏差用处

不大。

休止角的测定和 Carr 指数以及 Hausner 比被认为与粉体性质更相关。高剪切颗粒的微波干燥中，随着微波功率的增加，Carr 指数减小，原因可能是促进了粉尘的形成<sup>[98]</sup>。Hausner 比和缓慢的拍打速度显示水分会增加微晶纤维素 Avicel PH-302 的摩擦力<sup>[99]</sup>。过多尺寸孔流动和休止角被用于表征几种糊精的流动性。另一个使用 Carr 指数的例子是 Vennat 等报道的一组直接压片辅料和原花青素的流动性和可浸性指数<sup>[102]</sup>。这些材料用 Hosokawa 粉体特性测试仪进行测试。只用休止角和振实堆密度对微晶纤维素 Avicel PH-200 和乳糖的流变性进行分类<sup>[94,95]</sup>。

表 1 评价干燥固体材料流动性的点数

流动性和性能	休止角		压缩系数		铲角		均匀度系数 <sup>1)</sup>		内聚力 <sup>2)</sup>	
	等级	点数	百分比	点数	等级	点数	单位	点数	百分比	点数
极好，90~100pts	25	25	5	25	25	25	1	25		
无需辅助	26~29	24	6~9	23	26~30	24	2~4	23		
不成拱形	30	22.5	10	22.5	31	22.5	5	22.5		
好，80~89pts	31	22	11	22	32	22	6	22		
无需辅助	32~34	21	12~14	21	33~37	21	7	21		
不成拱形	35	20	15	20	38	20	8	20		
一般，70~79pts	36	19.5	16	19.5	39	19.5	9	19		
无需辅助，但有可能需	37~39	18	17~19	18	40~44	18	10~11	18		
要振动	40	17.5	20	17.5	45	17.5	12	17.5		
合格，60~69pts	41	17	21	17	46	17	13	17		
材料可能会在边界停止	42~44	16	22~24	16	47~59	16	15~16	16		
流动	45	15	25	15	60	15	17	15	<6	15
差，40~59pts	46	14.5	26	14.5	61	14.5	18	14.5	6~9	14.5
需要搅动和振动	47~54	12	27~30	12	62~74	12	19~21	12	10~29	12
	55	10	31	10	75	10	22	10	30	10
非常差，20~39pts	56	9.5	32	9.5	76	9.5	23	9.5	31	9.5
需要反复搅动	57~64	7	33~36	7	77~89	7	24~26	7	32~54	7
	65	5	37	5	90	5	27	5	55	5
非常非常差，小于 19pts	66	4.5	38	4.5	91	4.5	28	4.5	56	4.5
要求特殊搅动和专门设	67~89	2	39~45	2	92~99	2	29~35	2	51~79	2
计的料斗	90	0	>45	0	>99	0	>36	0	>79	0

1) 用于颗粒和粉状颗粒材料。

2) 用于可测定有效内聚力的粉末。

注：pts 表示得分、点数。

总之，Carr 的流动性表征方法经常用来表现粉体的特性。没有一个方法可以单独给出一个完整的流动图，所以经常联合几种方法使用。如果已知流动过程中施加的力，当要进行科学的表征时，剪切池是一个可选的方法。如果

已经测试出颗粒有好的流动性，流量计可能是一个好方法。联合各种经验测试的试验，如 Carr 的流动性测试，作为一个简单的筛选装置或多批样品的质量控制测试是很有用的。方法的选择应根据所需的信息量和要检测的材料，也许更



重要的是可用的设备。

# G

## 剪切池

过孔流动是比较流动性好的材料的一种极好的办法。然而,药剂上经常要处理内聚的、不易流动的粉末。通过使用动力加料器增强这些材料的流动性,产生了一个动态过程。休止角的测定不施加压力,因而限制了其在一些不易流动粉体中的应用。剪切测试仪是测试粉体在负载下的摩擦特性,对于高速压片或胶囊填充设备中的粉体流动性能提供有价值的信息。

### 1. 数据处理

本节将讨论一些不同类型的剪切池。每种剪切池均设计成在已知力的作用下平衡粉体,当负载力等于或者小于最初的平衡力时测定剪切粉体需要的力。对于每一个平衡力,以在一系列的负荷下所需的剪切力对负载力作图,方法与确定非粉体材料的摩擦系数一致。这种图称为屈服轨迹(图5),常常在不同的平衡力下得到。因此,如果在给定过程中作用于材料的力相互接近,就能获得这种材料的摩擦和内聚性,这与真实的过程非常相关。

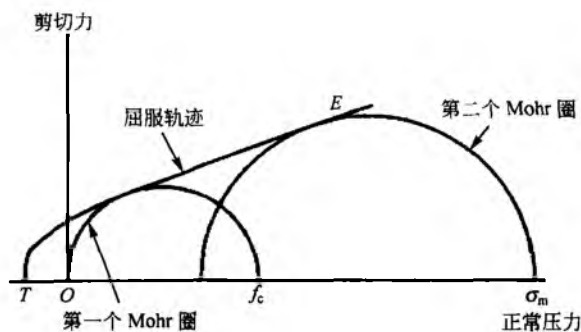


图5 用于获得主要的正常压力 $\sigma_m$ 和非限制屈服力 $f_c$ 的Mohr圆<sup>[78]</sup>

处理剪切数据最常用的办法是Mohr圆分析,参见图5。 $x$ 轴为与剪切力相应的力(负载力), $y$ 轴为剪切力,曲线则描述了内聚性固体的屈服轨迹。Mohr圆的交叉点与屈服轨迹相切。这些圆描述了粉体在任何方向剪切力作用下所受到的合力。Mohr圆与屈服轨迹相切,第二个Mohr圆与 $x$ 轴相交的最高点称为正常压力 $\sigma_m$ ,该值表示最大正常压力,在该力作用下粉体在发生屈服和改变体积之前被压实。与屈服轨迹相切且过原点画一个Mohr圆,该圆与 $x$ 轴的交点称为非限制屈服轨迹 $f_c$ 。该值表示作用于自由表面引起失效所需的最大主应力。Jenike将此值与料斗中的拱强度建立联系<sup>[38]</sup>。对于内聚性固体,屈服轨迹与 $y$ 轴(剪切力)的交点为产生屈服轨迹的粉末内聚力,与负 $x$ 轴的交点为材料在用于生成轨迹的正常负载下压缩产生的抗张强度。大多数采用一系列的平衡力,获得一系列屈服轨迹或屈服轨迹簇[图6(a)]。Jenike<sup>[38]</sup>以非限制屈服轨迹

$f_c$ 与一系列屈服轨迹的主压紧力作图,将其作为流动(或失效)函数。使用每一个值将材料按流动性分类。

式(5)描述了屈服轨迹。早在1965年,通过研究超过30种粉体的屈服轨迹形状建立了式(5)<sup>[103]</sup>:

$$\ln(\tau/C) = (1/\eta)\ln[(\sigma + T)/T] \quad (5)$$

式中: $\tau$ 为剪切力; $\sigma$ 为正常压力; $T$ 为抗张强度; $C$ 为内聚力; $\eta$ 为剪切指数。式(5)常称为Warren-Springs方程,经过很多作者的证实<sup>[104~106]</sup>。本章前面曾提到Geoffroy和Carstensen改进了该方程,考虑了材料粒径的影响<sup>[14]</sup>。Hiestand<sup>[106]</sup>认为Warren-Springs方程适用于描述剪切失效的屈服轨迹。然而,与通常用法不同,术语 $T$ 不是抗张强度而是内聚力,其值远小于抗张强度。正如Hiestand所述,这与该方程的通常用法相反。他主要基于谷留醇的实验数据得出这个结论。相反,Irono和Pilpel<sup>[107]</sup>改进了对剪切力数据的处理[图6(b)],在该图中他们将独立测得的抗张强度值插入到剪切池轨迹图中的正常负载。

用来处理数据的实际方法随使用的剪切池不同而不同。有人直接测定各种函数,如张力和非限制屈服力。第2节将介绍使用的方法和各自的优缺点,以及怎样用于药用粉体的流动性测定。但是不包括对数据处理的详细描述。可以在参考文献中找到有一些关于剪切力和抗张强度测试的很好的综述。Johanson与Jenike在该领域进行了非常重要的工作,发表了关于本领域的历史性展望<sup>[108]</sup>。

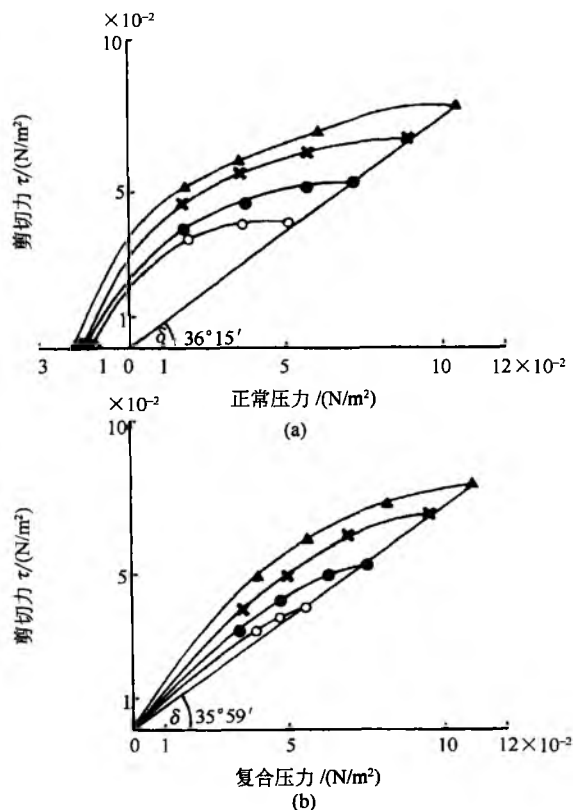


图6 20℃时 $0.5 \times 10^{-5} \text{ mol/g}$ 的轻质液状石蜡包裹的乳糖粉末的屈服轨迹簇。 $P_r \blacktriangle 0.346$ ;  $\times 0.282$ ;  $\bullet 0.279$ ;  $\circ 0.261$ ; (a)正常压力; (b)复合压力<sup>[107]</sup>



## 2. Jenike 剪切池

这个装置一开始是用来测试土壤的,经 Jenike 改进后用于测定粉体的内聚性,并将数据与料斗的流动性和设计相关。这是一个标准池(图 7),是很多固体材料处理研究数据的基础。它是水平分开的,下半部固定,上半部以不变的低速移动。池先装满样品,然后在负载盖上加上负载压紧[图 7(a)],以微小的角度向前向后旋转盖子。移去负载盖和模圈,刮去粉末与上半池颈部平齐。把剪切盖放好,在固定部分之上移动上半部进行剪切。负载等于或小于压紧负载。用相同的压紧负荷和依次降低的剪切负荷重复该过程,直到得到屈服轨迹。如果要得到一组屈服轨迹,就要使用一系列的压紧力。流动因子图至少要基于三个压紧力。不用说,该过程是非常费时和乏味的。另外一个缺点是很难恰当地压紧样品。因此,测试结果非常依赖于操作员。一般通过预实验确定恰当的压紧,并检查剪切过程中获得的压力-张力曲线的形状。尽管存在这些困难,但是 Jenike 剪切池已经广泛使用并已商品化。药学文献中已经有很多关于应用该装置的论文<sup>[103~116]</sup>。Doelker<sup>[109]</sup>比较了不同类型的微晶纤维素,发现一些方法如 Hausner 比和 Carr 指数的重现性比较差,只有同一个作者进行的测试才可以比较。他认为测试内聚性粉体流动性更可靠方法是使用剪切池。他接着讨论了微晶纤维素和常用的直接压片赋形剂的不同流动性测量法。

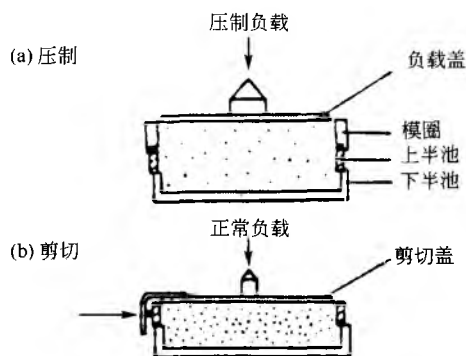


图 7 Jenike 剪切池 (摘自 York, P. Int. J. Pharm. 1980, 6, 101.)

## 3. 平板型剪切池

Nash 等<sup>[117]</sup>和后来的 Hiestand 等<sup>[118,119]</sup>发明了一种易于搭建的简易测试装置,用以评价药用粉体(图 8)。将粉体放在两块平板之间,通常在与粉体接触的平板表面上放置砂纸或其他表面粗糙的材料,以确保粉体在床上剪切而非在平板表面上。在上板上放置压紧重物,通过剪切移动完成最终的压紧,以缓慢的速度移动从而能够获取张力计的读数。重复这一动作,直到记录仪记录的剪切力恒定不变。然后降低上板重物的质量,并通过一个简单的剪切运动获得屈服轨迹上较低的一点。整个过程必须对屈服轨迹

上的每个点进行重复试验。

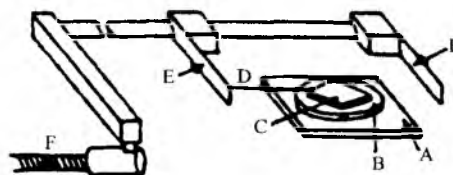


图 8 平板型剪切池。关键部分: A. 下板; B. 模板; C. 上板; D. 牵引绳; E. 悬臂式应变仪; F. 螺丝插孔 (摘自 P. Int. J. Pharm. 1980, 6, 100.)

与使用 Jenike 池一样,该过程是很费时的。可是 Amidon 和 Houghton<sup>[111]</sup>使用该装置获得的一个屈服轨迹用于比较。Hiestand 等<sup>[120]</sup>将这种仪器与 Jenike 池进行比较后,认为这种简单的剪切池可用于描述粉体的非限制屈服力。这两种装置的测定结果是不同的。但是,Hiestand 装置需更少的粉体,且压紧步骤更加自动化和一致,它提供了一个可供选择的表征药用粉体性质的廉价装置。Amidon 和 Houghton<sup>[27]</sup>用这种装置检查了水分对微晶纤维素粉体流动性的影响。

## 4. 圆形或环形剪切池

圆形或环形剪切池是由 Carr 和 Walker 在 1968 发明的<sup>[121]</sup>,近年来这种装置经历了多次改进。Peschl<sup>[122,123]</sup>发明了一种环形剪切池,该池中样品和剪切池组成了一个完整的圆圈,这与早期的在圆圈外部有一个样品带的池不同。这样就消除了壁面摩擦力。同时它转动非常缓慢,所以速度变化在剪切测量中更可以忽略不计。这样整个圆环都可利用,且内圈和外圈的速度变化可以忽略不计。Schulze<sup>[124-126]</sup>对环形池做了最后的改进(Schulze tester RST-01.01)。在 Schulze 的环形剪切测试仪中,样品放在外圈的环形槽内。一个连接到悬臂的倾斜盖子放在样品顶部,盖子底部和池的底部都附有小横条,以防止粉体在盖子或底部的滑动。剪切池旋转时,通过悬臂连接到固定的横梁可防止盖子转动。池相对于固定的盖子的运动引起粉体床的剪切,附在连接棒上的负载池测量开始转动所需的力。通过悬臂悬挂重物对样品施加重力,在剪切过程和粉体样品的平衡时均可进行。也可以移走池,在测试仪外通过在样品上放置重物来进行长时间压紧,这与 Jenike 池相似。现在又发明了一种计算机控制的可以自动加负荷于样品的自动化测试装置<sup>[126]</sup>。这种装置可以手工模式、半自动模式和全自动模式进行操作。

早期的环形剪切池, Peschl 或 Schulze tester RST-01.01 池与 Jenike 池相比有几个重要优势:剪切面积恒定,操作更简便,压紧与剪切更快。因为粉体床压紧后,可以描述完整的轨迹而无需每次加负载后重新压紧。压紧过程更加自动化和一致,消除了许多测量过程中操作员的变异性。Peschl 报道了用他的装置测定的内摩擦力与片剂重要差异的关系<sup>[122,123]</sup>。Peschl 剪切测试装置至少被一家美国以

及欧洲的制药公司用于剪切测试和药物质量控制。Nqvist<sup>[82,127]</sup>、Nqvist 和 Nicklasson<sup>[81]</sup>利用一种环形剪切池对直接压片乳糖和各种活性药物如高剂量青霉素进行测试,发现这一装置能很好预测粉体压片时的流动性和片剂质量差异的关系。实际上根据剪切池数据可以预测生产青霉素产品时旋转压片机调整的频率<sup>[82]</sup>。1985年, Baichwal 和 Augsburg<sup>[128]</sup>用环形剪切池测定添加各种润滑剂的药物粉末与光滑金属表面的摩擦力大小。最近, Podczek 和 Miah<sup>[57]</sup>使用商用 Carr 环形剪切池测定无润滑剂和加润滑剂的药物粉末的流动因子。Schulze<sup>[125,126]</sup>证明能够区分含有或不含有1%活性药物的乳糖的流动性差异。同一个实验室制备了环形剪切测试仪测定大量固体材料的壁摩擦力<sup>[129]</sup>。Schulze<sup>[130]</sup>对先前所提到的剪切装置和接触角以及后文将讨论的桨形测试仪进行了很好的综述。他还列举了几种本章讨论以外的装置。

### 5. 双轴和三轴剪切池及其他相关测试

有几个剪切测试和其他相关测试用于大量固体材料处理、料斗和储料器的设计等,但还没有广泛应用于药物研究。单轴剪切测试仪、Johanson Hang-up Indicizer 和压缩性试验是已运用于处理大量材料和工业测试装置的例子,这在 Schulze 的论文中有描述<sup>[130]</sup>。Enstad 和 Feise 进一步讨论了单轴剪切测试仪用于测试粉体在单方向的紧密程度<sup>[131]</sup>。他们的论文重点讨论了双轴剪切测试仪<sup>[131]</sup>。尽管在药学文献中没有提及,但由于在20世纪90年代出现了大量的新测试装置,这种测试方法在最近的粉体技术文献中已受到大量关注。基本上有三种类型的双轴测试仪,即刚性界面、柔性界面和混合界面测试仪。刚性界面测试仪大多用于测试固体颗粒的力学行为。样品压制成砖形,装置确保样品总是保持矩形横切面。在柔性测试装置中,表面是用柔性的橡胶制成的,可以通过柔性壁内的空气加压室对样品施加压力。混合界面系统仅用于高压沙装表面。以恒定的体积进行剪切,测试装料的时间和改变装料的方向,测定压力和张力的影响因素,是该测试方法的主要功能。这一装置的大多数研究都是对石灰石和沙子进行的,研究结果已用于设计料斗。三轴剪切试验仪于1920年被引入用于土壤力学领域,并没有广泛应用于表征药用粉体性质的研究,但在粉体处理文献中有所阐述。Luong<sup>[132]</sup>综述了这种测定方法。Kolymbas 和 Wu<sup>[133]</sup>对实验技术、装置中存在的可能误差以及如何校正进行了广泛的讨论。在三轴测试仪中,样品受到三个方向的压力,压力室通常保持其中两个方向的压力不变。前面讨论的剪切池是双轴的,受到的压力是加正常负载时剪切方向的。在三轴剪切池中,样品置于圆柱形橡胶膜内,两端用坚硬的盖子密封。样品由来自于三个方向的相同大小的力压紧,产生容积张力但不至于引起剪切运动。一般通过活塞的单向运动给盖子施加压力,而压力室维持另一个方向的压力。记录各个方向的压力变化和体积变化。通常使用 Mohr 圆处理数据。用此装置可以比双轴试验仪更直接地获得评价材料的某些因

素。三轴剪切装置主要是研究用装置,可以考察多种变化因素。三轴剪切装置不太适合制药行业的流动性测试,因为它设计用于较高的压力。

Johanson<sup>[134]</sup>发明了一种很简易的装置,称为 Johanson Indicizer 系统或 Johanson hang-up Indicizer 系统,他们认为这种装置可以预测材料在料斗中的桥接。Bell<sup>[135]</sup>综述了这种装置。在私下交谈中, Johanson 表示他们用这种装置检测了大量药物。仅需将少量的粉体压成桥接,测定破坏桥接使粉体流动所需的力。它并非设计用于测试粉体的详细参数,只提供粉体桥接的测试。这种设备已商品化。

剪切测试后通过 Warren-Springs 方程或延长屈服轨迹可以得到抗张强度。通过商品化的分裂池设备直接测量抗张强度也是普遍的方法。将粉末压紧成已知的密度,通常通过加重物来实现。池的一半是固定的,另一半可在低摩擦表面移动,记录分离指定密度的粉体所需的力。通常在抗张强度的对数和填充率(样品密度除以真实密度)的对数之间存在直线关系。Hiestand 等<sup>[106]</sup>认为没有一个使用刚才所述的松散填充粉体床的方法是成功的,因此他测定压实抗张强度。尽管如此,药剂研究者仍然测定粉体床的抗张强度。Chowhan 和 Yang<sup>[136]</sup>发现在抗张强度和胶囊填充量的变异系数间存在线性关系。在另一篇报道中他们发现含有单一助流剂(如玉米淀粉和微晶纤维素)的粉末混合物流速与抗张强度呈线性关系<sup>[62]</sup>。Ho 等则发现,对于很多直接压片辅料,抗张强度和片重差异无关<sup>[110]</sup>。

通常不单独使用抗张强度预测流动性。Danjo 等<sup>[25]</sup>利用抗张强度测试、剪切池测试和 Carr 流动因子研究粒子形状对粉体流动性的影响。

总之,已开发了各种剪切和抗张强度测试装置,很多已商品化。尽管这些设备更复杂,比其他设备使用更困难,但给出的数据更科学,有助于用力学方法解决流动性问题。

## 崩塌效应和粉体流变仪

本章前面的“颗粒形状的影响因素”部分,介绍了分形几何学原理。如先前讨论的, Hickey 和 Concessio 利用分形分析法表征药用粉体的流动性,使用了振动铲<sup>[20]</sup>。Crowder 和 Hickey 开发的振动铲装置能够更迅速获得流动性数据<sup>[137]</sup>。通过使用这个装置和分形几何学,就能够量化喷雾和非喷雾干燥乳糖的流动性差异<sup>[80]</sup>。Kaye 等也使用固体振动流来测量崩塌效应<sup>[18,19]</sup>,他们使用旋转鼓法来研究固体流的崩塌行为<sup>[138]</sup>。这个商品化装置称为 Aero-Flow™ 自动粉体流动性分析仪<sup>[10]</sup>,现在正用于制药工业。

这个装置的理论依据可以在分形维数和决定性混乱理论中找到。Kaye 使用一个叫做“空间分形维数”的术语<sup>[139]</sup>,他没有将分形数据作为物理结构处理,而是作为能描述混乱系统的事件模式处理。在同一篇文章中,他将决定性混乱描述为决定论物理学描述的事件的相互作用。事件的相互作用变得十分复杂,以至于整个系统也会变得混乱。所以他将分形分析法与混乱理论结合起来,发展了动态

粒子流的理解方法。Hickey 和 Concession<sup>[140]</sup>采用相同的方法使用旋转鼓来研究乳糖的特性。在装置中,他们使用了摄像机测量随时间变化的动态休止角。Kaye 开发的商业化装置使用光传输并用一组光电池来测量光传输,装置见图 9。

如图 9 所示,将粉末置于可旋转的鼓形圆筒中,提升

粉末,至动态的休止角超出时,粉末样品便会向下崩塌。当移动的粉末阻挡了照到光电池的光线时,便产生与粉末崩塌相关的信号输出,并记录信号。图 10 显示了乳糖测定的一组数据<sup>[141]</sup>。

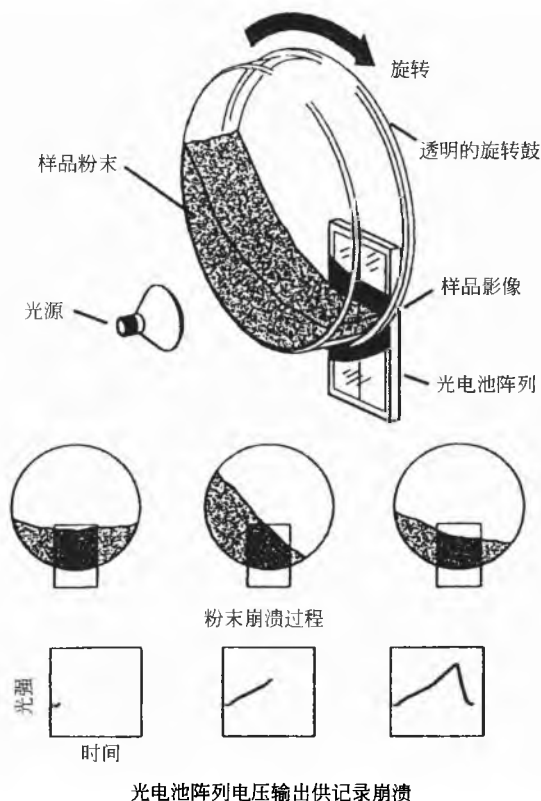


图 9 旋转鼓崩塌试验装置的示意图。该装置为 TSI Aero-Flow 自动粉体流动性分析仪。上图描述了装置。粉体崩塌的过程显示当鼓旋转时粉体在鼓中所处的位置。下图显示每次鼓旋转时的电压信号输出<sup>[10]</sup>

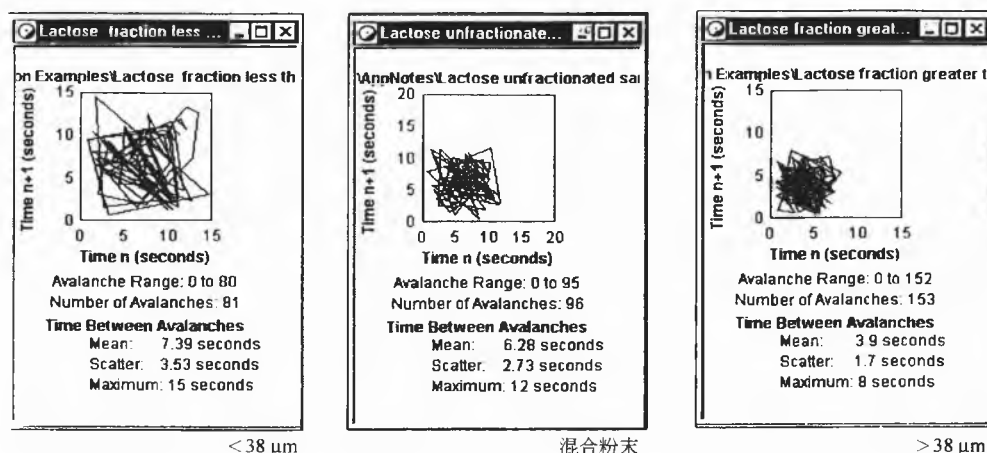


图 10 TSI Aero-Flow 自动粉体流动性分析仪的旋转鼓崩塌数据。左图显示了过 38 $\mu$ m 筛网的乳糖 (小于 38 $\mu$ m) 的数据输出。原始乳糖样品 (未过筛) 的输出数据见中图, 右图显示滞留于 38 $\mu$ m 筛网 (大于 38 $\mu$ m) 的乳糖的输出数据<sup>[10]</sup>

## G

根据文献,原料的流动性与发生崩塌的平均时间相关。发生的时间越短,流动性越好。而分散则与内聚性<sup>[10]</sup>或不规则因子有关<sup>[143]</sup>。低分散值表明材料内聚性低,并且预示更规则的流动。而高分散值表明材料的内聚性强,出现不规则流动的可能性更大。图 10 的例子是筛成两部分的乳糖样品:一部分在 38 $\mu\text{m}$  以上;一部分在 38 $\mu\text{m}$  以下。中间的数据来自于未筛分的乳糖。从图 10 可以看到,和期望的一样,较细的材料平均分散值较大,并且材料分散值大,流动性差。粒径大的筛分显示出最短的平均崩塌时间,最小的分散值显示出更好的流动性。如预想的,未筛分的乳糖产生的数据在两者之间。使用 Aero-Flow 装置研究了各批一水化乳糖和扑热息痛的流动性,发现批与批之间存在差异<sup>[142]</sup>。Trobbridge 等<sup>[143]</sup>使用一个商品化可调的自动鼓测试仪测试了 5 个等级的乳糖,发现当鼓转速达到 180s/r 时,平均崩塌时间和压片时的流动性表现出很好的相关性。当转速设定为 200s/r 时,在一个等级的乳糖中观察到了滑动,还得到了不同的滑动次序。结论是,固定转速单元能鉴别两个最佳的处方但不能区别出边缘流动和非流动,但可调转速的单元可以区别。Crowder 和 Hickey<sup>[144]</sup>综述了粉末流动的物理学与制药固体材料的关系。本章有一节解释了复杂系统的许多术语,包括崩塌测量的讨论,利用混乱理论测量流动性,包括旋转鼓装置。讨论中还包括粉末和颗粒的混合及研磨,本章都没有涉及,但也影响了固体材料流动性或受其影响。

短桨或刀片流变仪普遍用于测定液体的剪切力。Bra-bender<sup>[145]</sup>开发了一种用于固体材料的类似系统,用金属板将固体压紧,测量初始的转力矩。Podczek 曾经用一种新的商品化刀片式流变仪测试过 7 种不同供应商的微晶纤维素<sup>[146,147]</sup>。在他们的实验中,他们能够测出各批产品间微小的差别,并与实际的胶囊填充经验和压片经验相关。测量所用的仪器已商品化,称为 FT3 粉体流变仪<sup>[148]</sup>(Podczek 的文章将该仪器称为干湿粉体流变指纹仪,英国 Bourne End 的 ManUmit 产品公司)。在这个仪器里,粉体置于底部封闭的圆形容器。刀片进入粉体,并且上下做螺旋状运动,同时记录刀片轴的受力情况。刀片的螺旋走向是由轴向旋转速度和刀片旋转方向所决定的。刀片与粉体的接触角度可以变化,刀片的方向和测量角可以允许测定压紧、剪切和滑动的粉体。处理转力矩数据,以获得特定的测试条件下旋转刀片上的粉体柱可以产生的理论最大转矩。通过这种方法,可以在不同的剪切条件下测定粉体的剪切力,包括多种向下压紧模式和向上伸展模式。Podczek 发现向下压紧模式对多种微晶纤维素样品性能的细小差别最敏感。使用 Carr 压缩指数,这些差别表现不明显<sup>[146,147]</sup>。其他条件如滑床更不明显。Freeman 报道了用滑石粉、氧化锌和一个未命名的药品测试这种装置<sup>[149]</sup>。通过测试一种材料找到合适的测试条件,使用这种装置可以做简单和高灵敏度的对照试验,因为它不受操作员的影响并且能给出定量值。

## 结论

关于这些方法,最后应该回答的问题是,你应该使用哪种或哪些方法。Velasco 比较了静态休止角、动态休止角、Carr 压缩指数、流量计、Ludipress<sup>®</sup> 和 Maltrin<sup>®</sup> M 150 环形剪切测试方法,并在所有的方法中建立了较好的相关性<sup>[150]</sup>。Tan 和 Newton 比较了 Carr 压缩系数、Hausner 比、休止角和 Jenike 流量因子,并证明了对于 5 种药用赋形剂,所有这些方法均具有良好的相关性<sup>[151]</sup>。他们发现内流角和有效摩擦角之间没有相关性。如以前所提到的,可以在慢速崩塌和快速崩塌结果以及其他一些物理测量结果中观察到差异<sup>[143]</sup>。如前所述,同一种粉末在不同的条件下的流变仪测量法与物理测定法并不总是相关<sup>[146,147]</sup>。

两篇最近的论文比较了一些流动测量技术,并用统计学进行比较,提出了一种新的流动指数。Lee 等<sup>[152]</sup>比较了 6 种赋形剂的崩塌测试结果、Carr 压缩指数和临界孔直径。统计分析确定了三种方法的粉体流动性指标是相关和相似的。他们还使用双重方法,结合了视觉观察粉末的移动类型和用数字描述,如崩塌和散布的平均时间,发现在评价粉体流动性时,双重方法要比单独数字描述精确得多。Taylor 等用振动铲、崩塌、临界孔、休止角和压缩指数测定了 41 种药用混合物,包括纯赋形剂和活性药物混合物<sup>[153]</sup>,建立了一种经验的复合指标,根据处方研制者的经验比较粉体的流动性。也进行了粉体的休止角、压缩百分比和临界孔径三者的主因素分析。运用主因素分析,将三个测试结果进行统计权重,得到了加权复合指数,作者认为可以最佳地预测这些药用材料的流动性。振动铲和崩塌数据与处方研制者的经验和引用厂商的参考流动性是不一致的。作者认为,如果运用进一步处理数据(如分形分析),这两种测试方法的结果可能会更相关。

固体材料的流动过程非常复杂,并且取决于很多材料和工艺参数。什么是最好的方法?答案取决于你的工艺,你要预测测试的内容,以及选择测试方法或者多种测试方法联用来适合你的需求。

## 参考文献

1. Von Behren, Dale, A. Physical Characterization of Excipients in Practice. Pharm. Technol. 1996; 87-89, June.
2. Cartilier, L. H.; Moës, A. Effect of Flowing Adjuvants on the Homogeneity and the Kinetics of Mixing of Low Dosage Cohesive Powder Mixtures. Drug Dev. Ind. Pharm. 1986, 12 (8, 9), 1203-1218.
3. Sallam, E. A.; Orr, N. A. Studies Relating to the Content Uniformity of Ethinylestradiol Tablets 10  $\mu\text{g}$ ; Effect of Particle Size of Excipients. Third Expo. /Congr. Int. Technol. Pharm. 1983, 2, 28-37.
4. Samyn, J. C.; Murphy, K. S. Experiments in Powder Blending and Unblending. J. Pharm. Sci. 1974, 63,

- 370—375.
5. Hauer, V. B.; Remmele, T.; Züger und Sucker, H. Gezieltes Entwickeln und Optimieren von Kapselformulierungen mit Einer Instrumentierten Dosierröhrchen-Kapselabfüllmaschine. *Pharm. Inc.* 55 Nr. 5 1993.
6. British Standard 2955, British Standards Institute, London, 1958.
7. Standly-Wood, N. WS-16, Powder and Bulk Solids Conference and Exhibitions, Chicago, 1989.
8. Hiestand, E. N. Powders; Particle-Particle Interactions. *J. Pharm. Sci.* 1966, 35, 1325—1344.
9. Carstensen, J. T.; Ertell, C.; Geoffrey, J. -M. Physico-Chemical Properties of Particulate Matter. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (1, 2), 195—219.
10. TSI Aero-Flow™ Automated Powder Flowability Analyzer, TSI Inc.
11. Danish, F. Q.; Parrott, E. L. Flow Rates of Solid Particulate Pharmaceutical. *J. Pharm. Sci.* 1971, 60, 548—554.
12. Gold, G.; Duvall, R. N.; Palermo, B. T.; Slater, J. G. Powder Flow Studies III. *J. Pharm. Sci.* 1968, 57, 667—671.
13. Newton, J. M.; Bader, F. The Angle of Internal Flow as Indicator of Filling and Drug Release Properties of Capsule Formulations, *J. Pharm. Pharmacol.* 1987, 39, 164—168.
14. Geoffroy, J. -M.; Carstensen, J. T. Modified Warren-Springs Equation, *Powder Technol.* 1993, 76, 135—140.
15. Mandelbrot, B. B. The Fractal Geometry of Nature; Freeman, W. Ed.; San Francisco, 1983.
16. Kaye, B. H. Characterization of Powders and Aerosols; Wiley-VCH; Weinheim, 1999.
17. Kaye, B. H. Chaos and Complexity; Discovering the Surprising Patterns of Science and Technology; VCH; Weinheim, 1993.
18. Kaye, B. H. Characterizing the Flowability of Powder Using the Concepts of Fractal Geometry and Chaos Theory. *Part. Part. Syst. Charact.* 1997, 14, 53—66.
19. Kaye, B. H. A New Approach to Powder Rheology. *Pharm. Technol.* March, 1994; 116—126.
20. Hickey, A. J.; Concessio, N. M. Flow Properties of Selected Pharmaceutical Powders from a Vibrating Spatula. *Part. Part. Syst. Charact.* 1994, 11, 457—462.
21. Brittain, H. G. Raw Materials. *Drug Dev. and Ind. Pharm.* 1989, 15 (13), 2083—2103.
22. Cartilier, L. H.; Tawashi, R. Effect of Particle Morphology on the Flow and Packing Properties of Lactose. *S. T. P. Pharma Sci.* 1993, 3 (3), 213—220.
23. Pitkin, C.; Carstensen, J. T. Effect of Particle Shape on Some Bulk Solid's Properties. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16 (1), 1—12.
24. Wong, L. W.; Pilpel, N. J. Effect of Particle Shape on the Mixing of Powders. *J. Pharm. Pharmacol.* 1990, 42, 1—6.
25. Danjo, K.; Kinoshita, K.; Kitagawa, K.; Lid, I. K.; Sunada, H.; Otsuka, A. *Chem. Pharm. Bull.* 1989, 37 (11), 3070—3073.
26. Huber, G. M. W.; Becker, R.; Müller, R. H. Zusammenhang zwischen Fließeigenschaften und Oberfläche Pulverförmiger Rezepturen. *Pharm. Ind.* 1994, 56 (4), 389—392.
27. Amidon, G. E.; Houghton, M. E. The Effect of Moisture on the Mechanical and Powder Flow Properties of Micro-crystalline Cellulose. *Pharm. Res.* 1995, 12 (6), 923—929.
28. Doelker, E.; Mordier, D.; Iten, H.; Humbert-Droz, P. Comparative Tableting Properties of Sixteen Microcrystalline Celluloses. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1987, 13 (9—11), 1847—1875.
29. Heng, P. W. S.; Staniforth, J. N. The Effect of Moisture on the Cohesive Properties of Microcrystalline Celluloses. *J. Pharm. Pharmacol.* 1987, 40, 360—362.
30. Staniforth, J. N.; Rees, J. E. Electrostatic Charge Interactions in Ordered Powder Mixes. *J. Pharm. Pharmacol.* 1982, 34, 69—76.
31. Staniforth, J. N. British Pharmaceutical Conference Science Award Lecture 1986 Order out of Chaos. *J. Pharm. Pharmacol.* 1987, 39, 329—334.
32. Marinelli, J. Factors that Impact a Bulk Solid's Flowability (Internet). 2000; 1—2.
33. York, P.; Pilpel, N. Effect of Temperature on the Frictional, Cohesive, and Electrical Conducting Properties of Powders. *Mater. Sci. Eng.* 1972, 9 (5), 281—291.
34. Pilpel, N.; Britten, J. R. Effects of Temperature on the Flow and Tensile Strengths of Powders. *Powder Technol.* 1979, 22 (1), 33—44.
35. Onyekweli, A. O.; Pilpel, N. Cooling as a Possible Method for Increasing the Flowability of Certain Pharmaceutical and other Powders. *J. Pharm. Pharmacol.* 1980, 32, 120—125.
36. Jayasinge, S. S.; Pilpel, N.; Harwood, C. F. Effect of Temperature and Compression on the Cohesive Properties of Particulate Solids. *Mater. Sci. Eng.* 1970, 5 (5), 287—294.
37. Pilpel, N. Cool Powders Run Fast. *New Scientist* 1981; 313—315.
38. Jenike, A. W. Storage and Flow of Solids. *Bull.* 123

G

- 1964, Utah Engineering Experimental Station, University of Utah, Salt Lake City.
39. Marinelli, J. Mass Flow Design Considerations? (Archiving-Part 1), (Internet). 2000; 1-2.
40. Bates, L. Flow in Bulk Storage Bins (Internet). 2000; 1-4.
41. Marinelli, J. Wall Friction Effects (Internet). 2000; 1-3.
42. Marinelli, J. How Wall Friction Effects Hopper Angles, (Internet). 2000; 1-3.
43. Marinelli, J. Compressibility—What is it? (Internet). 2000; 1-3.
44. Brown, C. J., Nielson, J., Eds.; *Silos Fundamentals of Theory, Behaviour and Design*, E & FN Spon; London and New York, 1998.
45. Marinelli, J.; Carson, J. W. Bulk Powders. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th Ed.; 1996; 19, 1114-1141.
46. Mulcahy, D. E., Ed. *Materials Handling Handbook*, 1998.
47. Prescott, J. K.; Hossfeld, R. J. Maintaining Product Uniformity and Uninterrupted Flow to Direct-Compression Tableting Presses. *Pharm. Technol.* 1994, 18 (6), 98-114.
48. Bates, L. The Use of Inserts in Hoppers, (Internet). Powder and Bulk Dot Com2000, 1-3.
49. Troxel, T. G. Flow Aids—What to Use and when to Use them. *Powder/Bulk Solids Adv. Dry Process* 2000, 12-16.
50. Jones, T. M. Symposium on Powders, Society of Cosmetic Chemists of Great Britain, Dublin, Ireland, 1969
51. Peleg, M.; Mannheim, C. H. Effect of Conditioners on the Flow Properties of Powdered Sucrose. *Powder Technol.* 1972, 7, 45-50.
52. Neumann, B. S. *Advances in Pharmaceutical Sciences*. Bean, H. S., Beckett, A. H., Charles, J. E., Eds.; Academic Press; London, 1965, 2, 181-207.
53. Jones, T. M.; Pilpel, N. Some Physical Properties of Lactose and Magnesia. *J. Pharm. Pharmacol.* 1965, 17, 440.
54. Borerro, J. M.; Muñoz Ruiz, A. J.; Jiménez-Castellanos, M. R. Relationship between the Flow Characteristics and the Intrinsic Factors of Chlorpromazine Hydrochloride and its Mixtures with Diluents as Direct Compression Formulations. *Boll. Chim. Farmaceutico. Anno.* 1994, 133 (5), 294-300.
55. Chang, R.-K.; Leonzio, M.; Hussain, M. A. Effect of Colloidal Silicone Dioxide on Flowing and Tableting Properties of an Experimental, Crosslinked Polyalkylammonium Polymer. *Pharm. Dev. Technol.* 1999, 4 (2), 285-289.
56. Nastruzzi, C.; Cortesi, R.; Esposito, E.; Genovesi, A.; Spadoni, A.; Vecchio, C.; Menegatti, E. Influence of Formulation and Process Parameters on Pellet Production by Powder Layering Technique. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2000, 1 (2), 1-22.
57. Podczek, F.; Miah, Y. The Influence of Particle Size and Shape on the Angle of Internal Friction and the Flow Factor of Unlubricated and Lubricated Powders. *Elsevier Int. J. Pharm.* 1996, 144, 187-194.
58. Van Ooteghem, M.; De Winter, B.; Ludwig, A. Influence of the Mixing Conditions on the Flow Properties of Powders to be Filled into Hard Gelatin Capsules. *Acta Pharm. Jugosl.* 1998, 38, 287-295.
59. Laughlin, S.; Carstensen, J. T. Relationship between Flow Rates of Granular Powders through Stationary and Moving Orifices. *J. Pharm. Sci.* 1981, 70, 711-713.
60. Joyce, M. A.; Liebert, R. T.; Carter, R. W. Eastern Regional Meeting, American Association of Pharmaceutical Scientists, Atlantic City, NJ, 1988.
61. Dahlinder, L. E.; Johansson, M.; Sjogren, J. Comparison of Methods for Evaluation of Flow Properties of Powders and Granulates. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1982, 8 (3), 455-461.
62. Chowhan, Z. T.; Yang, I. C. Powder Flow Studies IV. Tensile Strength and Orifice Flow Rate Relationships of Binary Mixtures. *Int. J. Pharm.* 1983, 14, 231-242.
63. Muñoz-Ruiz, A. J.; Jiménez-Castellanos, M. R. Integrated System of Data Acquisition for the Measurement of Flow Characteristics. *Pharm. Technol. Int.* 1993; 21-26.
64. Flemming, J.; Mielck, J. B. Requirements for the Production of Microtablets: Suitability of Direct-Compression Excipients Estimated from Powder Characteristics and Flow Rates. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1995, 21 (19), 2239-2251.
65. Rey, H.; Wagner, K. G.; Wehrle, Schmidt, P. C. Development of Matrix-Based Theophylline Sustained-Release Microtablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (1), 21-26.
66. Moneghini, M.; Carcano, A.; Perissutti, B.; Rubessa, F. Formulation Design Studies of Atenolol Tablets. *Pharm. Dev. Technol.* 2000, 5 (2), 297-301.
67. Faham, A.; Prinderre, P.; Farah, N.; Eichler, K. D.; Kalantzis, G.; Joachim, J. Hot-Melt Coating Technology. I. Influence of Compritol 888 Ato and Granule Size on Theophylline Release. 2000, 26 (2), 167-176.
68. Fernández-Arévalo, M.; Vela, M. T.; Rabasco, A. M. Rheological Study of Lactose Coated and Acrylic Resins.

- Drug Dev. Ind. Pharm. 1990, 16 (2), 295—313.
69. Timmins, P.; Delargy, A. M.; Minchom, C. M.; Howard, J. R. Influence of Some Process Variables on Product Properties for a Hydrophilic Matrix Controlled Release Tablet. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1992, 38 (3), 113—118.
70. Mollan, M. J., Jr.; Çelik, Characterization of Directly Compressible Maltodextrins Manufactured by Three Different Processes. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (17, 18), 2335—2358.
71. Onunkwo, G. C.; Udeala, O. K. Studies of Rauwolfia vomitoria Root III. Flow Properties of R. vomitoria Granulations. *S. T. P. Pharma Sci.* 1995, 5 (4), 296—301.
72. Goracinova, K.; Klisarova, L.; Simov, A.; Fredro-Kumbaradzi, E.; Petruševska-Tozi, L. Characterization of Fluid Bed Prepared Granulates with Verapamil Hydrochloride as Active Substance. *Acta. Pharm.* 1996, 46, 147—153.
73. Gohel, M. C.; Patel, L. D.; Modi, C. J.; Jogani, P. D. Functionality Testing of a Coprocessed Diluent Containing Lactose and Microcrystalline Cellulose. *Pharm. Technol.* 1999, 44—46, Yearbook.
74. Carr, R. L., Jr. Classifying Flow Properties of Solids. *Chem. Eng.* 1965, 7, 163—167.
75. Pilpel, N. Flow Properties of Non-Cohesive Powders. *Chem. Process Eng.* 1965, 46, 167.
76. Carstensen, J. T.; Lai, T. Y. F.; Toure, P.; Sheridan, J. Repose Angles as a Function of the Supporting Surface. *Int. J. Pharm.* 1980, 5, 157—160.
77. Jones, T. M.; Pilpel, N. Some Angular Properties of Magnesia and their Relevance to Material Handling. *J. Pharm. Pharmacol.* 1966, 18 (Suppl.), 182—189.
78. Pilpel, N. Cohesive Pharmaceutical Powders. *Advances in Pharmaceutical Sciences*; Bean, H. S., Beckett, A. H., Charles, J. E. Eds.; Academic Press; London, 1971, 3, 179—219.
79. Augenstein, D. A.; Hogg, R. An Experimental Study of the Flow of Dry Powders over Inclined Surfaces. *Powder Technol.* 1978, 19, 205—215.
80. Crowder, T. M.; Hickey, A. J. An Instrument for Rapid Powder Flow Measurement and Temporal Fractal Analysis. Part. Part. Syst. Charact. 1999, 16, 32—34.
81. Nqvist, H.; Nicklasson, M. Flow Properties of Compressible Lactose Containing Small Quantities of Drug Substances. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11 (4), 745—759.
82. Nqvist, H. Measurement of Flow Properties in Large Scale Tablet Production. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.* 1984, 5 (3), 21—24.
83. Parrott, E. L. Comparative Evaluation of a New Direct Compression Excipient, Soludex 15. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989, 15 (4), 561—583.
84. Carstensen, J. T. *Solid Pharmaceutics: Mechanical Properties and Rate Phenomena*; Academic Press; New York, 1980.
85. Neumann, B. S. Ch. 10. Flow Properties in Disperse Systems; Herman, J. J., Ed.; North-Holland Publishing Co. Amsterdam, 1953.
86. Hausner, H. H. Friction Conditions in a Mass of Metal Powder. *Int. J. Powder Metall.* 1967, 3 (4), 7—13.
87. Chowhan, Z. T.; Chow, Y. P. Evaluation of Pharmaceutical Availability from the Calculation of Drug Levels and Release Profiles. *Int. J. Pharm.* 1980, 4, 317—326.
88. Varthalis, S.; Pilpel, N. Anomalies in Some Properties of Powder Mixtures. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 415—419.
89. Sakr, F. M.; Pilpel, N. The Tensile Strength and Consolidation of Lacose Coated with Non-Ionic Surfactants II-Tablets. *Int. J. Pharm.* 1982, 10, 43—56.
90. Yamashiro, M.; Yuasa, Y.; Kawakita, K. An Experimental Study on the Relationship between Compressibility, Fluidity and Cohesion of Powder Solids at Small Tapping Numbers. *Powder Technol.* 1983, 34 (2), 225—231.
91. Geldart, D. Types of Gas Fluidization. *Powder Technol.* 1973, 7 (5), 285.
92. Molerus, O. Interpretation of Geldart's Type A, B, C and D Powders by Taking into Account Interparticle Cohesion Forces. *Powder Technol.* 1982, 33 (1), 81—87.
93. Munoz, R.; Velasco, A.; Antequera, M. V.; Monedero Perales, M.; del Carmen, J.-C.; Ballesteros, M. R. Powder Flow and Compression Characteristics of Dextrins for Direct Compression. *Congr. Int. Technol. Pharm.* 1992, 4, 131—139.
94. Flores, L. E.; Arellano, R. L.; Esquivel, J. J. D. Lubricant Susceptibility of Cellactose and Avicel PH-200: A Quantitative Relationship. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (3), 297—305.
95. Flores, L. E.; Arellano, R. L.; Esquivel, J. J. D. Study of Load Capacity of Avicel PH-200 and Cellactose, Two Direct Compression Excipients, Using Experimental Design. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (4), 465—469.
96. Mulderrig, K. B. Placebo Evaluation of Selected Sugar-Based Excipients. *Pharm. Technol.* 2000, 24 (5), 34—42.
97. Viseras, C.; López-Galindo, A. Characteristics of Phar-

- maceutical Grade Phyllosilicate Powders. *Pharm. Dev. Technol.* 2000, 5 (1), 47-52.
98. Kiekens, F.; Córdoba-Díaz, Remon, J. P. Influence of Chopper and Mixer Speeds and Microwave Power Level during the High-Shear Granulation Process on the Final Granule Characteristics. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (12), 1289-1293.
99. Nicholas, V.; Chambin, O.; Andrès; Rochat-Gonthier, M.-H.; Pourcelot, Y. Preformulation: Effect of Moisture Content on Microcrystalline Cellulose (Avicel PH-302) and its Consequences on Packaging Performances. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (10), 1137-1142.
100. Tsai, T.; Wu, J.-S.; Ho, H.-O.; Sheu, M.-T. Modification of Physical Characteristics of Microcrystalline Cellulose by Codrying with  $\beta$ -Cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87 (1), 117-122.
101. Armstrong, N. A. Direct-Compression Characteristics of Granulated Lactitol. *Pharm. Technol.* 1998; 84-92.
102. Vennat, B.; Gross, D.; Pourrat, A.; Pourrat, H. A Dosage Form for Procyanidins High-dose Tablets by Direct Compression. *S. T. P. Pharma.* 1988, 4 (5), 378-383.
103. Ashton, M. D.; Cheng, D. C. H.; Farley, R.; Valentin, F. H. H. Some Investigations into the Strength and Flow Properties of Powders. *Rheol. Acta* 1965, 4 (3), 206-217.
104. Eaves, T.; Jones, T. M. *Rheol. Acta*, 1971, 10, 127-134.
105. Kocova, S.; Pilpel, N. A. Failure Properties of Lactose and Calcium Carbonate Powders. *Powder Technol.* 1972, 5 (6), 329-343.
106. Heistand, E. N.; Poet, C. B. Tensile Strength and Compressed Powders and an Example of Incompatibility as End-point and Shear Yield Locus. *J. Pharm. Sci.* 1974, 63 (4), 605-612.
107. Irono, C. I.; Pilpel, N. Effects of Paraffin Coatings on the Shearing Properties of Lactose. *J. Pharm. Pharmacol.* 1982, 34, 480-485.
108. Johanson, J. R. Theory of Bulk Solids Flow a Historical Perspective. *Int. J. Bulk Solids Storage in Silos* 1987, 3 (1), 1-15.
109. Doelker, E. Comparative Compaction Properties of Various Microcrystalline Cellulose Types and Generic Products. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (17, 18), 2399-2471.
110. Ho, R.; Bagster, D. F.; Crooks, M. J. Flow Studies on Directly Compressible Tablet Vehicles. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1977, 3 (5), 475-487.
111. Amidon, G. E.; Houghton, M. E. Powder Flow Testing in Preformulation and Formulation Development. *Pharm. Manu.* July 1985; 21-31.
112. Kata, M. Shear Cell Investigation of Powder Mixtures Containing Micronized Drugs. *Acta Pharm. Technol.* 1979, 25 (3), 203-216.
113. Laloge, M.; Chulia, D.; Guillemoteau, J. Y.; Verain, A. S. T. P. *Pharma.* 1988, 4, 319-324.
114. Cohard, C.; Gonthier, Y.; Chulia, D.; Verain, A. Comparative Rheological Study of Different Materials with the Jenike Shear Cell. *J. Pharm. Belg.* 1984, 39 (4), 209-216.
115. Chulia, D.; Verain, A. Une Nouvelle Cellule a Cisaillement Adaptee Aux Problemes Pharmaceutiques, (A New Shear-cell Adapted to Pharmaceutical Problems). *Ann. Pharm. Franc.* 1983, 41, 15-24.
116. Sanz Urgoti, E.; Vasquez Lopez, F. Reologia De Materiales Pulverulentos -I. Aproximacion a su Estudio. *Cienc. Ind. Farm.* 1986, 5, 350-353.
117. Nash, J. J.; Leiter, G. G.; Johnson, A. P. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 1965, 4, 140.
118. Hiestand, E. N.; Wilcox, C. J. Some Measurements of Friction in Simple Powder Beds. *Pharm. Sci.* 1968, 57, 1427.
119. Hiestand, E. N.; Wilcox, C. J. Shear Cell Measurements of Powders; Proposed Procedures for Elucidating the Mechanistic Behavior of Powder Beds in Shear. *J. Pharm. Sci.* 1969, 58, 1403.
120. Hiestand, E. N.; Valvani, S. C.; Peot, C. B.; Strzelinski, E. P.; Glasscock, J. F. Shear Cell Measurements of Powders; Determination of Yield Loci. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62 (9), 1513-1517.
121. Carr, J. F.; Walker, D. M. Annular Shear Cell for Granular Materials. *Powder Technol.* 1968, 1, 369-373.
122. Peschl, I. A. S. Z. Quality Control of Powders for Industrial Application. *Powder Handling Process* 1989, 1 (4), 357-363.
123. Peschl, I. A. S. Z. Quality Control of Powders for Industrial Application, Proceeding of the 14th Annual Meeting Powder and Bulk Solids Rosemont, IL; May 1989, 517-536
124. Schulze, D. Development -Application of a Novel Ring. *Aufbereitungs-Technik* 2000, 35 (10), 524-535.
125. Schulze, D. Flowability and Time Consolidation Measurements Using a Ring Shear Tester. *Powder Handling Process* 1996, 8 (3), 221-226.
126. Schulze, D. First European Symposium Process Technology in Pharmaceutical and Nutritional Sciences;



- 1998, 276—285.
127. Nqvist, H. *Int. J. Pharm. Prod. Mfr.* 1984, 5 (1), 13—17.
128. Baichwal, A. R.; Augsburg, L. L. Development and Validation of a Modified Annular Shear Cell to Study Frictional Properties of Lubricants. *Int. J. Pharm.* 1985, 26, 191—196.
129. Behres, M.; Klasen, C.-J.; Schulze, D. Development of a Shear Cell for Measuring the Wall Friction of Bulk Solids with a Ring Shear Tester. *Powder Handling Process* 1998, 10 (4), 405—409.
130. Schulze, D. Ch. 2.2. Measurements of the Flowability of Bulk Solids, Silos, Fundamentals of Theory, Behaviour and Design; Brown, C. J., Nielson, J., Eds.; E. & FN Spon; London and New York, 1998; 18—52.
131. Enstad, G. G.; Feise, H. Ch. 2.3. Flow Property Testing of Particulate Solids by Uniaxial and Biaxial Testers; Brown, C. J., Nielson, J., Eds.; E. & FN Spon; London and New York, 1998; 53—64.
132. Luong, M. P. Ch. 2.4. Reflections on Triaxial Testing, Rheology and Flowability, Silos, Fundamentals of Theory, Behaviour and Design; Brown, C. J., Nielson, J., Eds.; E. & FN Spon; London and New York, 1998; 65—75.
133. Kolymbas, D.; Wu, W. Recent Results of Triaxial Tests with Granular Materials. *Powder Technol.* 1990, 60 (2), 99—119.
134. Johanson, J. R. The Johanson Indicizer™ System vs. the Jenike Shear Tester. *Bulk Solids Handling* 1992, 2, 237—240.
135. Bell, T. A.; Ennis, B. J.; Grygo, R. J.; Scholten, W. J. F.; Schenkel, M. M. Practical Evaluation of the Johanson Hang-up Indicizer. *Bulk Solids Handling* 1994, 14 (1), 117—125.
136. Chowhan, Z. T.; Yang, I. C. Powder Flow Studies III: Tensile Strength, Consolidation Ratio, Flow Rate and Capsule Filling-Weight Variation Relationships. *J. Pharm. Sci.* 1981, 70 (8), 927—930.
137. Crowder, T. M.; Hickey, A. J. A Semiconductor Strain Gauge Based Instrument for Rapid Powder Flow Rate Measurement. *Respiratory Drug Delivery* 1998, 6, 297—298.
138. Kaye, B. H.; Gratton-Liimatainen, J.; Faddis, N. Studying the Avalanching Behaviour of a Powder in a Rotating Disc. *Part. Part. Syst. Charact.* 1995, 12, 232—236.
139. Kaye, B. Moving and Storing Powders. Book in Preparation.
140. Hickey, A. J.; Concession, N. M. Chaos in Rotating Lactose Powder Beds. *Part. Sci. Tech.* 1996, 14, 15—25.
141. Kaye, B. H. Sampling and Characterisation Research: Developing Two Tools for Powder Testing. *Powder and Bulk Eng.* 1996.
142. Trowbridge, L.; Grimsey, I.; York, P. Assessing Powder Flow from Avalanching Behaviour. *Pharmaceutical Technology*; School of Pharmacy, University of Bradford; BRADFORD BD7 1DP, API Ref. Lib. #80.
143. Trowbridge, L.; Williams, A. C.; York, P.; Worthington, V. L.; Dennis, A. B. A Comparison of Methods for Determining Powder Flow; Correlation with Tableting Performance. *Pharm. Res.* 1997, 14 (11 (supplement)), 415.
144. Crowder, T. M.; Hickey, A. J. The Physics of Powder Flow Applied to Pharmaceutical Solids. *Pharm. Technol.* 2000, 24 (2), 50—58.
145. Brabender, O. H. G. Duisburg; Flowability Test, Specification Sheet No. 2124, 1982.
146. Podczek, F. Rheological Studies of the Physical Properties of Powders Used in Capsule Filling—Part I. *Pharm. Technol. Europe* 1999, 11 (9), 16—24.
147. Podczek, F. Rheological Studies of the Physical Properties of Powders Used in Capsule Filling—Part II. *Pharm. Technol. Europe* 1999, 11 (10), 34—42.
148. The New FT3 Powder Rheometer—Freeman Technology.
149. Freeman, R. The Flowability of Powders, International Conference on Powder and Bulk Solids Handling, 2000.
150. Velasco, A.; Muñoz-Ruiz, A. J.; Perales, M. C.; Muñoz, N.; Jiménez-Castellanos, M. R. Evaluation of an Adequate Method of Estimating Flowability According to Powder Characteristics. *Int. J. Pharm.* 1994, 103, 155—161.
151. Tan, S. B.; Newton, J. M. Powder Flowability as an Indication of Capsule Filling Performance. *Int. J. of Pharm.* 1990, 61, 145—155.
152. Lee, Y. S. L.; Poynter, R.; Podczek, F.; Newton, J. M. Development of a Dual Approach to Assess Powder Flow from Avalanching Behavior. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2000, 1 (3), 1—14, Article 21 (<http://www.pharmscitech.com>).
153. Taylor, M. K.; Ginsburg, J.; Hickey, A. J.; Gheys, F. Composite Method to Quantify Powder Flow as a Screening Method in Early Tablet or Capsule Formulation Development. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2000, 1 (3), 1—21, Article 18 (<http://www.pharmscitech.com>).

(张晚红 邱维佳 朱萍 译)

## G

## 光谱分析方法：红外光谱学

Marilyn D. Duerst

University of Wisconsin-River Falls, River Falls, Wisconsin, U. S. A.

## 引言

红外 (infrared, IR) 光谱学广义上讲是指研究物质与红外辐射间相互作用的学科。红外辐射的电磁光谱区域是波长为  $0.7 \sim 500 \mu\text{m}$ , 介于可见光和微波之间。红外光谱学家常以波数 (符号为  $\text{cm}^{-1}$ ) 为单位来描述这个区间的光谱, 它指每厘米长度内光波的个数。该区域 ( $14\,000 \sim 20\text{cm}^{-1}$ ) 通常又被分为三段:  $14\,000 \sim 4000\text{cm}^{-1}$  范围被称为“近红外”,  $4000 \sim 400\text{cm}^{-1}$  被称为“中红外”,  $400 \sim 20\text{cm}^{-1}$  被称为“远红外”。其中, 中红外光谱被广泛地用于分析药品和杀虫剂, 因此这里将重点加以讨论。

当分子由于振动、旋转或者旋转振动同时进行而引起偶极矩变化 (方向和 (或) 强度) 时, 化合物将会吸收红外辐射能量。分子振动的和频、差频或倍频吸收也可观察到。每个类型的分子其所能发生的振动和转动数量会不一样, 因此, 每个化合物均有自己特定的吸收频率, 以至于会显示出不同的 IR 光谱特征。化合物的这种特性使得有机化学家可以对未知样品进行鉴别和定量分析 (一个被称为振动圆二色谱的特殊红外技术可被用于鉴别光学异构体)。

化合物的某些官能团 (如羟基、羰基和胺基) 会在特定的频率处吸收红外辐射并显示出特定的吸收带, 而且不会受到分子中其他结构的影响。这种吸收带被称为“基团频率”, 它是可以被预测并被分析化学家用于推导未知分子重要的结构信息。任何状态如固体、液体和气体的样品均可以被采集到 IR 光谱。通过红外光谱学与其他分析技术如核磁共振 (NMR) 和质谱的联用, 有机化学家可对未知化合物的分子结构进行测定。

傅里叶变换红外 (FTIR) 光谱仪的发明带来了整个红外光谱学领域的革命。典型的 FTIR 光谱仪与传统色散型红外光谱仪相比在光谱分辨率和扫描速度方面有许多优点。由于采样技术、分析软件和仪器硬件的不断发展和改进, FTIR 光谱仪在从基础研究到质量控制再到在线过程控制等各方面都得到了快速提高。近年来, 人们对 FTIR 与色谱和其他分析技术联用如气相色谱 (GC-FTIR)、GC-质谱 (GC-MS-FTIR)、高效液相色谱 (HPLC-FTIR)、超临界流体色谱 (SFC-FTIR)、薄层色谱 (TLC-FTIR) 和热重分析 (TGA-FTIR) 非常感兴趣。这些通常被称为“联机技术”的方法, 将 IR 光谱作为鉴别色谱流出液中未知物的手段。通过使用正确的界面连接和采样技术, 在某些研究中检测限可以达到皮克级范围, 特别是 FTIR 显微镜的使用。

本文将主要讨论 IR 光谱学的基本原理、仪器和当前的

应用。在过去几年中, 出版了大量涵盖红外光谱学各个方面的参考资料<sup>[1-3]</sup>。要想更深入地了解更多的理论和仪器知识, 读者可以参照本文最后列出的参考书目。

## 理论

电磁波谱包括从宇宙射线到电磁波的所有辐射, 光谱范围涵盖  $10^{-9}\text{nm} \sim 1000\text{km}$  以上。按波长从短到长排列, 电磁波谱可分为  $\gamma$  射线, X 射线, 远、中、近紫外线, 可见光, 红外光和微波。电磁波的概念可以理解为在真空中以光速  $c$  ( $c = 3.0 \times 10^8 \text{m/s}$ ) 传播的波, 频率 ( $\nu$ ) 与波长的关系由式 (1) 表述:

$$c = \nu \lambda \quad (1)$$

以  $\text{cm}$  或  $\mu\text{m}$  为单位的波长定义为峰顶或峰谷间的距离, 频率是指单位时间内通过某个固定点的波的个数, 频率的单位是  $\text{Hz}$ , 即每秒钟波循环的次数。

红外光谱学中, 经常用波数  $\bar{\nu}$  代替频率, 它与波长的关系如式 (2):

$$\bar{\nu} = 1/\lambda \quad (2)$$

波数的单位是  $\text{cm}^{-1}$ , 表示每厘米长度内波的个数, 它与频率成正比, 但和频率不一样, 如式 (3):

$$c = \bar{\nu} \lambda, \text{ 因此 } \bar{\nu} = \nu/c \quad (3)$$

波数 ( $\text{cm}^{-1}$ ) 和波长 ( $\mu\text{m}$ ) 的关系由式 (4) 表示:

$$\bar{\nu} = 10^4/\lambda \quad (4)$$

## 红外光谱学

电磁辐射也可以被认为是光子以光速传播。光子的能量 ( $E$ ) 与波长 ( $\lambda$ )、频率 ( $\bar{\nu}$ ) 和光速 ( $c$ ) 的关系如式 (5), 其中  $h$  表示 Planck 常量 ( $h = 6.626 \times 10^{-34} \text{J/s}$ )。

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (5)$$

在所有的光谱技术中, 电磁辐射与分子之间相互作用的结果都是将能量传递给分子。分子吸收的能量是量子化的, 也就是说, 特定的吸收对应于特定的辐射频率。取决于光子能量的不同, 分子能量的增加可能改变原子核的取向或电子自旋的状态 (如果分子被置于磁场中)、外层电子的能量、振动-旋转的能量、使分子内层电子逸出或在核子中改变位置。

对红外辐射的吸收会改变分子旋转或振动的能量状态。分子的 IR 光谱可能显示出较宽的谱带而不是离散的谱线, 这是由于分子在发生振动能量变化的同时还伴随着旋转能量的改变。振动能量吸收有基频吸收、倍频吸收和合频吸收三种类型。基频振动吸收带通常出现在中红外区域, 只

有当入射的红外辐射频率与分子振动频率相同，并且原子的振动导致偶极距发生改变时分子才会吸收这种入射的红外辐射能量，认识到这一点非常重要。对称的振动不会改变偶极距，因此也就不会产生红外吸收。

伸缩和弯曲是两种主要的基频振动。伸缩振动吸收频率通常比弯曲振动频率高。伸缩振动是由原子沿化学键轴方向的运动组成，它会引起键长改变。弯曲振动指连在同一原子上的两个键的键角发生改变。图1显示了经典的一CH<sub>2</sub>—基团的伸缩和弯曲振动模式。

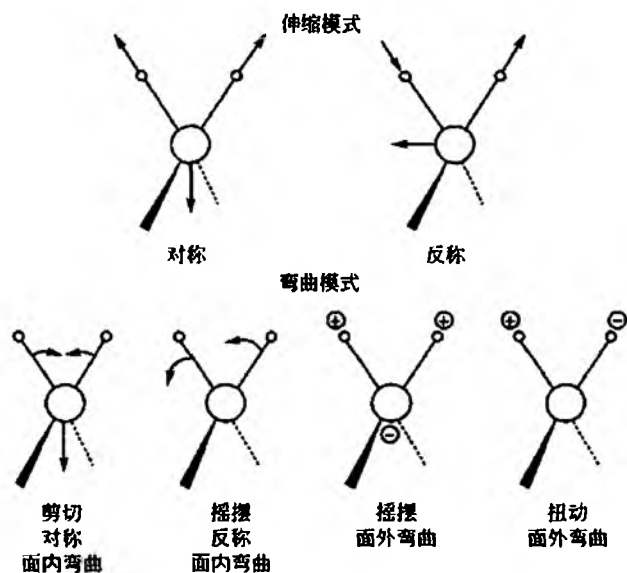


图1 —CH<sub>2</sub>—基团的伸缩和弯曲振动

振动吸收强度与偶极矩运动改变的尺度的平方成正比。偶极矩改变越小，吸收峰越弱，相反，大而持久的偶极矩变化，如羰基，当C—O键长发生改变时会显示强的红外吸收带。

拉伸频率受原子质量和键强（也就是化学键的强度）的影响，它们的关系由式（6）表示：

$$\nu = (1/2\pi c)(f/u)^{1/2} \quad (6)$$

式中： $\nu$ 指振动频率，cm<sup>-1</sup>； $c$ 指光速，cm/s； $f$ 指化学键力常数，mN/m 或 dyn/cm； $u$ 指折合质量 [ $u = m^1 m^2 / (m^1 + m^2)$ ]。

原子相互之间的空间方向也会影响振动频率。例如，分子内相近的两个相似频率的振动基团间的偶联或相互作用以及分子内和分子间的氢键均会影响振动频率。

总而言之，分子折合原子质量越小、键力常数越大，振动频率越高。其中一个原子是氢原子的基团的振动频率高于其他重原子基团。例如，如果C—H基团中的氢原子被氘原子取代，C—D基团的振动频率要比C—H基团小1.414倍。原子间的力常数与键强成正比，因此与键序也成

正比，因此，对于质量相同的基团，三键基团的振动频率大约比单键基团高三倍，双键基团的振动频率是单键基团的两倍。

多原子分子还会显示倍频和合频吸收红外光谱带。倍频振动约出现在基频频率的整数倍处，合频振动出现在不同基频频率的加和处。倍频和合频吸收强度比基频吸收强度低得多。

红外光谱中还普遍存在费米（Fermi）共振效应，它是指基频振动与倍频或合频振动间的相互作用。费米共振的结果是产生两个新的振动模式，其中一个频率比没有费米共振时低，另外一个则比它高。分子IR吸收光谱的独特性质有一部分是由于倍频吸收带、合频吸收带和费米共振吸收带形成的。

## 仪器

红外光谱仪的两个主要类型是色散型和非色散型。色散型仪器使用棱镜和光栅分离出不同频率的光。色散型仪器得到的IR光谱通常是波数（cm<sup>-1</sup>）或波长（μm）对透过率的点线图。非色散型光谱仪，其IR辐射不穿过棱镜或光栅，但穿过干涉滤波器或干涉仪，就像在傅里叶变换光谱仪，然后共同发射到样品上。样品吸收产生的干涉模式称为干涉图，它可以用数学方法（傅里叶变换）转换成传统的IR光谱。通过现代的计算机技术，这种数学运算在几秒钟内就可以完成。

经典的红外光谱仪由下列部件组成：辐射光源、样品窗、单色器（存在于色散型仪器中）、干涉滤波器或干涉仪（存在于非色散型光谱仪中）、检测器和记录或数据处理系统。中红外、远红外和近红外对仪器各个部件的要求各不相同。大多数商用红外光谱仪设计在中红外区域（4000~400cm<sup>-1</sup>）。FTIR光谱仪通过选择恰当的光源、光学系统和检测器可以覆盖整个红外光谱区域。本节中对红外光谱仪中的辐射光源、光学系统和检测器分别进行讨论。

## 辐射光源

当光源通电加热到一定温度后便产生红外辐射。常用于中红外光谱的辐射光源（有时候被称为“黑体”光源）有几种类型。表1总结了它们各自的特点，包括用于近红外和远红外区域的光源。大多数光源当加热到最佳温度时在某个特定波长范围内具有最大能量输出。辐射能量随波长的增长而逐渐下降。在色散型光谱仪中，通过扩大狭缝的宽度以使更多的辐射到达检测器，有时候可以对这一效应进行一些补偿。

表 1 红外分光计的辐射光源

光源	组成	操作温度/℃	红外范围	注意
镍铬合金线圈	镍铬合金	1100	中红外	空气冷却, 可靠, 廉价, 低温, 比其他光源强度弱
碳化炽热棒	碳化硅	1300	中红外或接近 $2000\text{cm}^{-1}$ 的远红外	水冷却, 辐射可降至 $80\text{cm}^{-1}$
能斯特灯	锆, 钽和钇的氧化物	1500	中红外 ( $10\ 000\sim 500\text{cm}^{-1}$ )	在高波数范围放射弱, 易碎, 需预热
高压汞灯	汞		远红外	在 $200\sim 10\text{cm}^{-1}$ 范围内最好
钨丝灯	钨		近红外	在 $33\ 000\sim 400\text{cm}^{-1}$ 范围内最好

### 1. 单色器

单色器大多存在于色散型仪器中, 它是一个能够将红外辐射分离成各个组成波长光的光学装置。单色器通常有几个部件组成, 包括用于准直、调焦或改变光束方向的镜组, 用于衰减辐射和降低杂散射以及消除多余的次级色散的滤光片, 其中最重要的部件是棱镜或衍射光栅。通过旋转棱镜或衍射光栅, 不同波长的光穿过固定狭缝, 从而使整个光谱范围得到扫描。在大多数情况下, 使用光栅比棱镜更好, 因为棱镜有较低色散率 (导致分辨率损失) 和在前后表面产生不期望的反射现象等缺点。

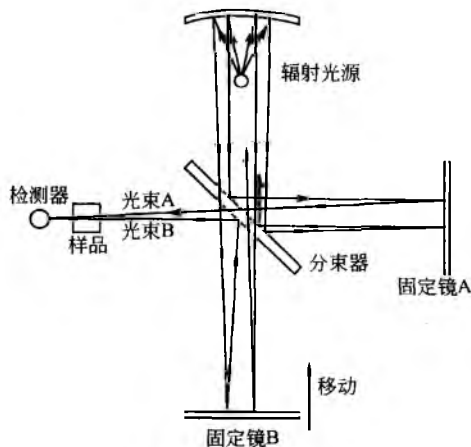
### 2. 干涉仪

用于非色散型仪器中的干涉仪是一个将辐射光束分离成两个部分进而又在两个光束间产生或没有产生光程差后将其重新重合的装置。干涉仪的基本概念是在将近一个世纪以前由 Michelson 提出的 (图 2)。它由一个定镜、一个动镜和一个分束器组成。由光源发射的红外辐射被分束器分离成两个相等的光束, 其中一个穿过达到定镜, 另一半被反射达到动镜, 两束光然后在分束器处重新重合并且穿过样品到达检测器。对于任何一个特定波长的光, 两束光束重合后产生相长或相消的干涉, 这取决于两束光束的光学光程差。置于光路中的样品吸收其中某个特定波长的辐射。记录得到的干涉图是除了被样品吸收掉外的所有波长光能量的总和。通过对干涉图进行傅里叶变换, 便可以得到传统的 IR 光谱图。

### 3. 检测器

检测器将红外辐射转变成电信号。检测器的两个主要类型是热电检测器和量子检测器。由于红外辐射引起的加热会改变热电检测器自身的一些物理特性。在量子检测器中, 红外辐射的量子特性接触产生的热量改变检测器的物理特性。

响应率 ( $E$ ) 或特定检测度 ( $D^*$ ) 和噪声等效功 NEP ( $W_n$ ) 经常被用于测量检测器的灵敏度。响应率取决于辐射波长和检测器温度。NEP, 也称为最小检测功, 是检测器噪声 ( $N$ ) 除以电压响应率 ( $E$ ) 的商。 $D^*$  是 NEP 的倒数, 这样,  $W_n = N/E$ ,  $D^* = 1/W_n$ 。一个高灵敏度的检测器具有小的 NEP 值和大的  $D^*$  值, 其噪声更小, 响应时间更快。

图 2 干涉仪的示意图<sup>[23]</sup>

### 4. 热电检测器

热电检测器吸收红外辐射并将其转变成热量, 由此引起温度改变, 一个温度依耐型的检测器特性从而被测定。红外辐射会引起检测器的特性的改变, 取决于不同类型的检测器, 这些特性包括液体、固体、气体的膨胀、电阻、电压和电的极化。热电检测器对很宽波长范围的辐射有响应。由于响应率取决于温度的变化量, 这些检测器的响应速度通常较慢, 为  $0.01\sim 0.1\text{ s}$ 。表 2 总结了不同类型热电检测器的特征。

表 2 红外分光计的热点检测器

检测器	组成	影响的物理性质	注意事项
热电偶和热电堆	铋和锡	两金属接合处的电压	最简单、最直接的测量; 响应慢 (30ms)
热敏电阻或热敏电阻热辐射计	Mn, Co 和 Ni 的氧化物	电阻改变	响应慢

续表



检测器	组成	影响的物理性质	注意事项
戈雷红外线气体检测器	氙气	气体膨胀，与隔膜移动相结合，改变光电池的照明	以适合的窗口可扩展到远红外区；响应时间15ms；对光强敏感；扩音障碍；易穿破隔膜
热电检测器	在低于居里点的温度极化的热电物质	电的极化引起电压改变	低噪声和响应快；可用于快速扫描 FTIR

5. 量子检测器

量子检测器通常由半导体材料或混合物制成。一些常用的量子检测器由 PbS、PbSe、InSb 或 MCT (HgTe-CdTe) 制成。量子检测器对红外辐射的吸收激发电子从非导体态进入导体态，结果引起电流或电压的改变。由于电子向更高能级的激发是量子化的，检测器向远红外显示尖锐的中止频率。冷却通常是必需的，以避免热激动产生内部电子噪声。检测器被冷却的温度取决于它的灵敏度，例如，MCT 检测器通常冷却到液氮温度 (77K)，而 PbS 和 PbSe 可以在稍低于环境温度下操作。量子检测器较热电检测器具有更高的灵敏度和更快的响应速度，因此在高性能 FTIR 光谱仪中使用较多。量子检测器的响应时间是以微秒记的而不是以毫秒记，而其灵敏度很大程度上依赖于半导体的组成。

色散型红外光谱仪

色散型红外光谱仪可以是单光路的也可以是双光路的，

通常是双光路的。双光路仪器较好地减少了分析过程中大气中 CO<sub>2</sub> 和水蒸气可能带来的干扰问题。通过在参比光路上放入溶剂池作为参比，溶剂的吸收也可基本消除。

一个经典的双光路光谱仪如图 3 所示。光源发出的辐射被分离成参比光路和样品光路。每个光路穿过梳子形状的衰减器以调整光束强度。两个光路由遮光器马达交替地送入单色器，遮光器的旋转频率通常是 11Hz 或 13 Hz。辐射被单色器分离成不同波长光后，光束穿过另一个狭缝到达检测器。双光路光谱仪的检测基于“光学零效应”原理。在无样品的情况下，到达检测器的两束光强度相等，此时记录笔记录为透过率 100%。当有样品的时候，两束光的强度不同。强度的差别被放大器放大，然后控制记录笔马达。参比光路中的梳形衰减器被记录笔马达驱动以调整参比光路的强度并使得其等于样品光路。记录笔在图表上上下下移动以记录样品光路的透过率，并监测衰减器需要被驱动的范围。扫描马达带动单色器中棱镜或光栅的旋转以扫描光谱，同时移动记录笔下面的图表。图表记录百分透过率对波数（或波长）的曲线。一个替代梳形衰减器的方法是记录参比光路和样品光路差别的曲线。

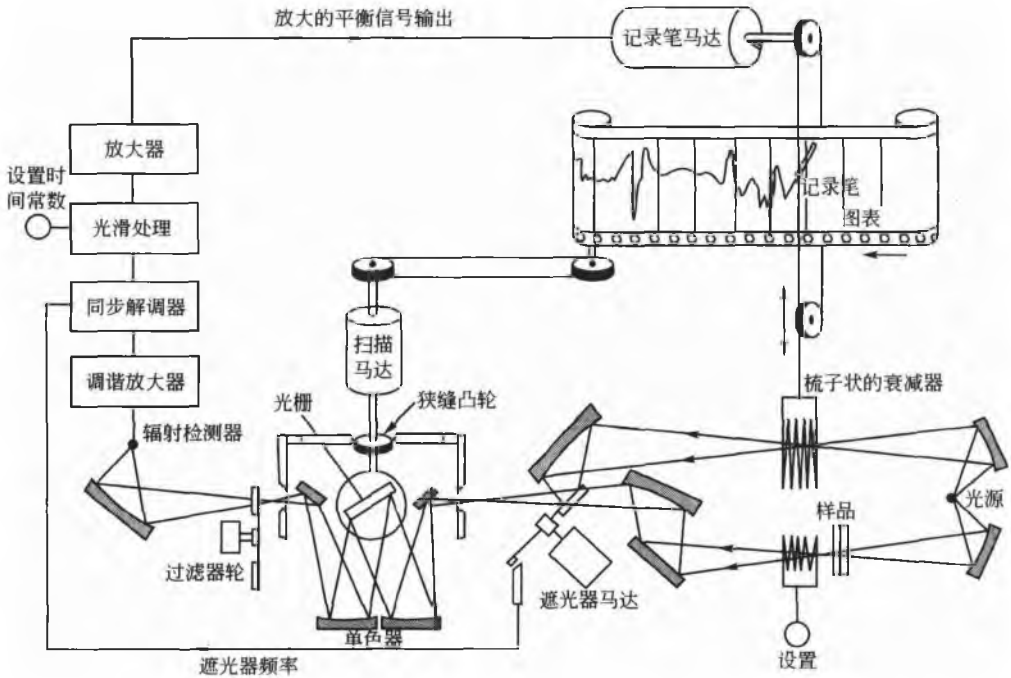


图 3 典型的双光路光谱仪的示意图

## G

## 非色散型红外光谱仪

非色散型光谱仪中的一种是应用滤波片分离所要的波长的光；另一种类型是应用干涉仪，即傅里叶变换红外（FTIR）光谱仪。使用简单滤波片以选择分析所需要波长范围的红外分析仪对于工业上在线监测气体或液体流非常有用。这种类型的 IR 分析仪具有高灵敏性和选择性。一个更为复杂的模式（带微处理器）可进行多组分分析、校正和数据处理，同样也可以得到报告。这种红外分析仪的设计超出了本文的讨论范畴。

傅里叶变换红外光谱仪可以是单光路或双光路。大多

数商业傅里叶变换红外光谱仪是单光路的（图 4）。双光路傅里叶变换红外光谱仪（图 5）很少见，只有极少数商业仪器采用，并大多用于研究应用而不是常规应用。双光路仪器被设计用于补偿大气的干扰。大多数现代 IR 光谱仪中的光学元器件是放置在密封和干燥的部件内，主要是为了降低水分和 CO<sub>2</sub> 的干扰。FTIR 光谱仪使用一个激光束产生一个参考信号以监测采样速率和动镜的移动速率，从而可以得到准确波长精度的光谱。

FTIR 技术较传统色散技术具有许多优点。其波数准确度更高，分辨率更好，短期信噪比更高，响应时间更快，这些优点使其对于在线和过程分析非常有用。而且 FTIR 光谱仪不需要对辐射进行色散或滤波。

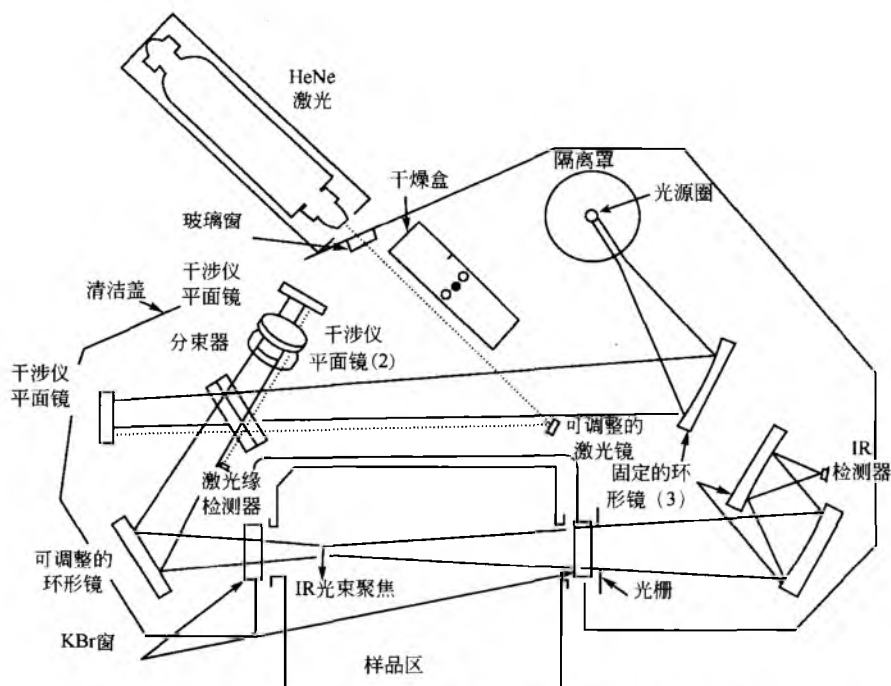


图 4 单光路 FTIR 光谱仪的光学图（Perkin-Elmer 公司提供）

## 数据处理系统

大多数现代红外光谱仪装备有计算机或微处理器。计算机可以记录和存储光谱，画出吸光度或透过率光谱，叠加光谱以方便对光谱进行比较，将光谱与另一张光谱进行相减（以测量其差别或从样品光谱中扣除溶剂或杂质的光谱），平滑和（或）进行基线校正，进行多次扫描以增加信噪比和改善灵敏度，以及执行其他功能。计算机使得傅里叶变换处理和多组分分析时复杂的数学矩阵计算变得非常容易。

## 样品处理

无论是气体、液体还是固体均可以得到红外光谱。为

了得到透射红外光谱，对于不同的样品，制样技术包括溶液、压膜、糊状或制成压片。反射光谱与透射光谱不同，它是通过测量从待分析样品表面反射回来的红外辐射来得到光谱。使用合适的采样附件（市场上有供应），采用反射法测量样品的红外光谱只需要很少或不需要样品预处理。反射法是非破坏、非侵入性的方法，对于分析那些太厚或采用透射法时吸收太强的样品非常有用。

### 1. 透射光谱

使用透射法获得样品的光谱通常需要一个样品池，其窗口材料必须符合：

- 在待测光谱范围内“透明”（无吸收）；
- 化学惰性（不能与样品和测量环境发生相互作用）；
- 容易成型、研磨和磨光以保证光学质量；
- 足够硬以保证其形状。

通常广泛使用的窗材料（表 3）是碱性卤化物，特别是 NaCl 和 KBr。

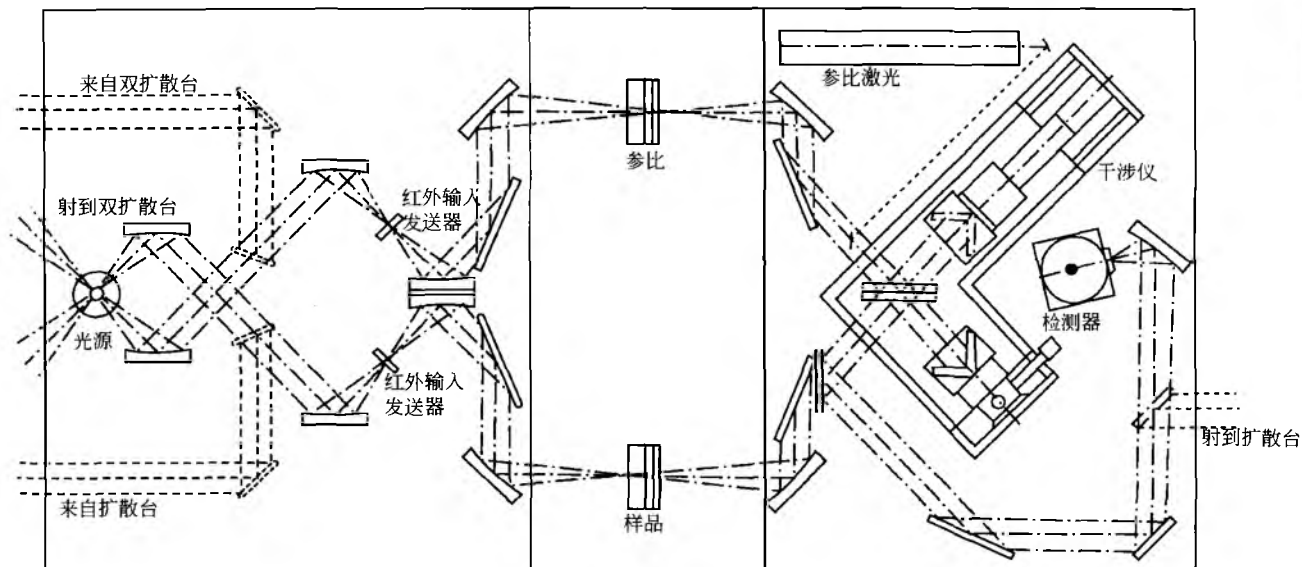


图 5 双光路 FTIR 光谱仪的示意图

表 3 红外传递物质的性质

物质	传播波数范围/ $\text{cm}^{-1}$	折射率 <sup>2)</sup> ，在 $1000\text{cm}^{-1}$	20℃ 水中溶解度/(g/100g)
氯化钠 (NaCl)	40 000~625	1.49	36.0
溴化钾 (KBr)	40 000~385	1.52	65.2
氯化钾 (KCl)	40 000~500	1.46	34.7
溴化铯 (CsBr)	10 000~270	1.67 ( $5000\text{cm}^{-1}$ )	124.3
碘化铯 (CsI)	33 000~200	1.74	160.0 (61℃)
熔融二氧化硅 ( $\text{SiO}_2$ )	50 000~2 500	1.42 ( $3333\text{cm}^{-1}$ )	不溶
氟化钙 ( $\text{CaF}_2$ )	50 000~1 100	1.39 ( $2000\text{cm}^{-1}$ )	$1.51 \times 10^{-3}$
氟化钡 ( $\text{BaF}_2$ )	50 000~770	1.42	0.12 (25℃)
二碘一溴化铊 (KRS-5)	16 600~250	2.37	$< 4.76 \times 10^{-2}$
溴化银 (AgBr)	20 000~285	2.20	$12 \times 10^{-6}$
氯化银 (AgCl)	25 000~435	2.00 ( $5000\text{cm}^{-1}$ )	不溶
硫化锌 [ $\text{ZnS}$ (Irtran-2) <sup>1)</sup> ]	10 000~715	2.20	不溶
硒化锌 [ $\text{ZnSe}$ (Irtran-4) <sup>1)</sup> ]	10 000~515	2.41	不溶
聚乙烯 (高密度)	625~33	1.54 ( $5000\text{cm}^{-1}$ )	不溶
锗 (Ge)	20 000~600	4.0 ( $5000\text{cm}^{-1}$ )	不溶
硅 (Si)	8 300~1 500 和 360~70	3.4	不溶
青玉 ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )	50 000~1 780	1.74	不溶
氧化镁 [ $\text{MgO}$ (Irtran-5)]	25 600~1 060	1.71 ( $5000\text{cm}^{-1}$ )	不溶

1) 对于稀释的全反射光谱测定法。

2) 除有其他说明。

## 2. 气体和低沸点液体

对于气体样品的常规红外分析，通常使用一个 10cm 固定光程长的样品池。对于痕量分析，如空气监测，则需要一个更长光程的样品池以提高灵敏度。可变光程样品池（图 6）可为具有同一体积的样品提供 20m、40m 和 120m

的光程（按 1.5m 递增）。常规的红外光谱仪的样品窗没有 120m 长的样品池。长光程气体池是采用反射光程设计，其中红外光束在离开样品池之前会在池中多次反射。从外面的刻度盘可以改变内部镜组的角度以调节光束在内部反射的次数。将样品的压力增加到 10atm 是改善灵敏度的另一种方法。

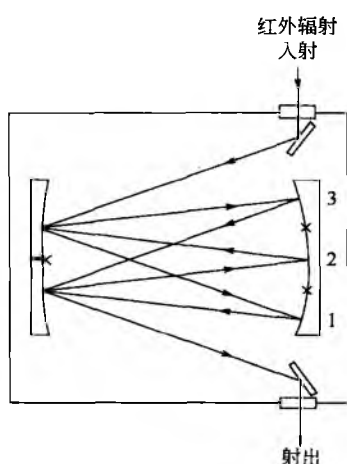


图6 可变光程样品池 [摘自参考文献 [30]]

### 3. 液体和溶液

对于液体样品的分析，浓度和光程的选择方式是使得透过率在 15%~75%。对于纯液体，非常薄的样品层 (0.001~0.05mm) 已经足够。对于 0.05%~10% (w/w) 的溶液，通常使用 0.1~1mm 之间的样品池。对于溶液的

分析，使用色散型仪器时可以在参比光路上放一个装有纯溶剂的样品池作补偿 (这是单光束傅里叶变换仪器的一个缺点)。总之，选择的溶剂不应该与溶质发生强烈相互作用。通常会使用多种溶剂以覆盖整个光谱范围。例如， $\text{CCl}_4$  在  $4000\sim1333\text{cm}^{-1}$  透明， $\text{CS}_2$  在  $1333\sim650\text{cm}^{-1}$  透明，它们可以同时被使用。一些普遍使用的溶剂是含氟代氯仿、亚甲基氯化物、乙腈和丙酮。关于这些溶剂的透明光谱范围的信息可以在文献 [1] 中查看。在非极性溶剂中稀释的溶液通常可以得到更好的光谱。

液体分析时使用的样品池有三种类型：密封的、可拆卸的和可变厚度的 (固定的和旋转式窗口)。图 7 示意了一个圆形可拆卸式样品池和一个圆形密封式样品池，它们均由 Perkin-Elmer 公司设计。使用矩形样品窗的样品池市场也有供应。这些密封的样品池设计用于定量分析。可拆卸样品池非常容易清洗，适合用于常规分析。可拆卸样品池的光程可以通过一个相配的垫片进行调节。这些可变光程的样品池的光程可以在 0.025~6mm 之间连续改变。这种类型对于在液体分析时测定消光系数和在双光路色散型仪器中补偿溶剂吸收有用。对于连续液体分析可以使用流通池，如在红外与色谱联用时分析柱流出物。

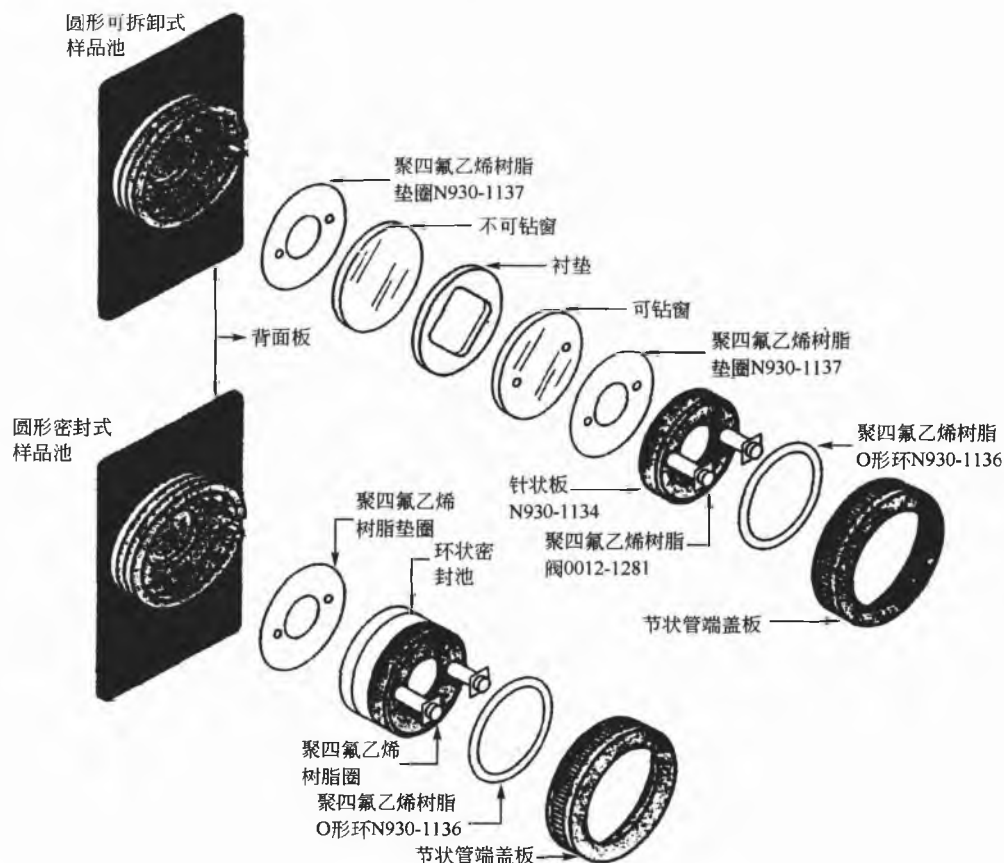


图7 液体样品圆形可拆卸式样品池和圆形密封式样品池的示意图 (Perkin-Elmer 公司提供)



## 4. 固体

固体可通过溶液涂膜法、糊状法或压片法，或使用红外显微镜进行测量。

### 4.1 涂膜法

制膜技术对于多聚物、树脂和无定形固体样品非常有用。先将样品溶解于适当的挥发性溶剂中，然后将溶液倒入一个适当的窗片表面，通过温和加热或抽真空处理使溶剂挥发。该方法的一个缺点是在做透射光谱时会导致过多的光散射。该缺点可通过采用衰减全反射或内部反射采样技术予以克服。

### 4.2 糊状法

在光滑的玛瑙研钵中研磨 2~5mg 样品至粉碎均匀，加入一两滴乳化油，继续研磨成均匀糊状样品。样品应该被研磨成颗粒尺寸小于  $2\text{ }\mu\text{m}$  以避免过多的能量散射。糊状样品集于红外窗片上，调整厚度以使透光率在 10%~99% 范围内。常用的乳化剂是以医用润滑油（一种高沸点矿物油）、六氯丁二烯（hexachlorobutadiene）、全氟煤油（perfluorokerosene）和氟氯碳润滑剂（chlorofluorocarbon greases）。

### 4.3 压片法

将 0.5~1.0mg 样品与 100mg 干燥的粉末 KBr 至玛瑙研钵或（Wig-1-bug）中研磨，以使颗粒尺寸小于 2mm。然后在 68.9~103.4 MPa（10 000~15 000 psi，psi 为非法定单位， $1\text{ psi}=0.155\text{ cm}^{-2}$ ）的压力下压成片。一种小压力的简单操作也可行，但采用这种技术经常会使光谱在  $3448\sim 1639\text{ cm}^{-1}$  范围内出现水分峰。

## 反射光谱法

用透射法分析固体样品时可能会出现的问题是辐射散射。应用反射光谱法有时候会避免这个问题。应用反射光谱法，可以不需要或很少需要样品预处理即可容易获得固体材料的光谱。许多固体样品可以采样该技术来测量其光谱，如饮料容器的表面涂层、硅晶片、聚合物膜及其他难以处理的样品。但是反射技术与透射技术相比，灵敏度要低，这是由于从样品表面反射回来时有约 80% 的辐射会损失掉。

相应于固体表面的反射行为有不同类型的反射光谱。图 8 列出了固体反射测定技术的不同种类。镜反射技术用于表面光滑的固体样品。在反射吸收光谱中，辐射穿过薄膜表面到达一个反射体（通常金属性的）然后再反射回来再次穿过材料。膜厚通常是  $0.2\sim 20\text{ }\mu\text{m}$ 。该技术通常用于饮料容器表面材料和半导体器件的晶片材料。漫反射技术适用于表面粗糙、粗纹理的材料如粉末、纤维和其他表面粗糙的样品。

衰减全反射（ATR）光谱是一种广泛采用的采样技术，

其中，样品被放置在一个反射媒介上（一个板状或棱镜形状的材料称为内反射元件）。穿入棱镜的光束入射角如果大于临界角（样品和棱镜的反射系数的一个因数），则会在内部反射。

在这个过程中，样品会吸收辐射，从而得到其特征光谱。通过 ATR 技术得到的样品光谱通常可与透射光谱相比，但经常会出现谱带偏移。ATR 技术已经被用于分析太厚或采用透射技术时吸收太强的材料。采用透射分析技术对很难分析的水溶液也可采用液相 ATR 技术分析。

大多数反射光谱是通过利用一个附件，可以容易的放入传统红外光谱仪的样品窗或从其中移除。这些附件被设计用于每一种应用，经常由一些镜子或棱镜用于反射或聚焦能量。大多数 FTIR 光谱仪和 FTIR 显微镜的采样附件可商业获得。

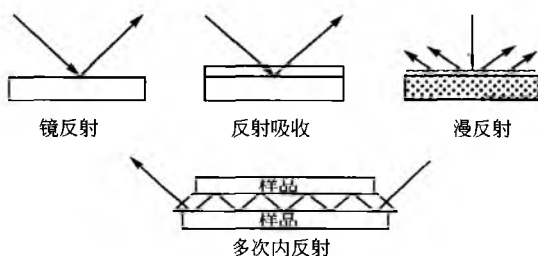


图 8 反射行为的主要类型

## 定性分析

IR 光谱法用于定性分析主要是未知化合物的鉴别。对于一个纯物质，该化合物光谱与标准品光谱的匹配是可以作为肯定的判别。但在同样的条件下测定它们的光谱相当重要。固体物质可能存在不同的晶型，这时固态的标准品和样品的 IR 光谱可能并不完全一致。在这种情况下，相同份额的测试样品和标准品被溶解于相同体积的适宜的溶剂中，然后将溶液在相同的容器和条件下蒸干，再分别测定残留物的光谱。也可以通过在同样的溶剂中重结晶的办法来进行重新测定。

## 红外光谱解谱

对于没有参考标准品图谱的未知化合物，其重要的结构信息可从红外光谱中获得。图 9 简单说明了不同官能团与吸收频率（以  $\text{cm}^{-1}$  为单位）之间的关系<sup>[4]</sup>。通过留意不同官能团吸收频率的存在或缺失，相关的常见的基团如  $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 、 $-\text{COOH}$  等，化合物的大致的结构形态往往可以快速判定。

中红外区域的 IR 光谱被分为两个区域， $4000\sim 1300\text{ cm}^{-1}$  为官能团区域， $1300\sim 400\text{ cm}^{-1}$  为指纹区。为了解释一个红外光谱，出现在  $4000\sim 2500\text{ cm}^{-1}$  之间的氢原子的伸缩振动被首先检查用于判断该化合物是芳香族还是脂

## G

肪族。3300 $\text{cm}^{-1}$ 处的尖峰暗示 $\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$ 、末端乙炔氢或者 $-\text{NH}$ 基团的存在，芳香族和不饱和化合物在3100~3000 $\text{cm}^{-1}$ 出现峰而脂肪族化合物出现在3000~2800 $\text{cm}^{-1}$ 。不饱和化合物可由于 $\text{C}=\text{C}$ 和 $\text{C}-\text{C}$ 的拉伸在2500~1540 $\text{cm}^{-1}$ 出现吸收峰。第二步，基团频率用于检查某些基团的存在和不存在，如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}$ 和 $-\text{C}=\text{O}$ 。羰基的伸缩振动出现在1850~1540 $\text{cm}^{-1}$ 。指纹区的1300~

909 $\text{cm}^{-1}$ 每一个分子的特征，以其他区域为参考对其进行考察时，它会提供某些官能团的重要鉴别信息。在909~650 $\text{cm}^{-1}$ 区间没有强吸收往往说明没有芳香结构。官能团的频率会随分子环境的变化会有些不同。这样，频率的偏移为未知化合物提供了进一步的结构信息。一些经典的例子如分子间或分子内的氢键作用、羧酸的二聚作用和分子的内张力。

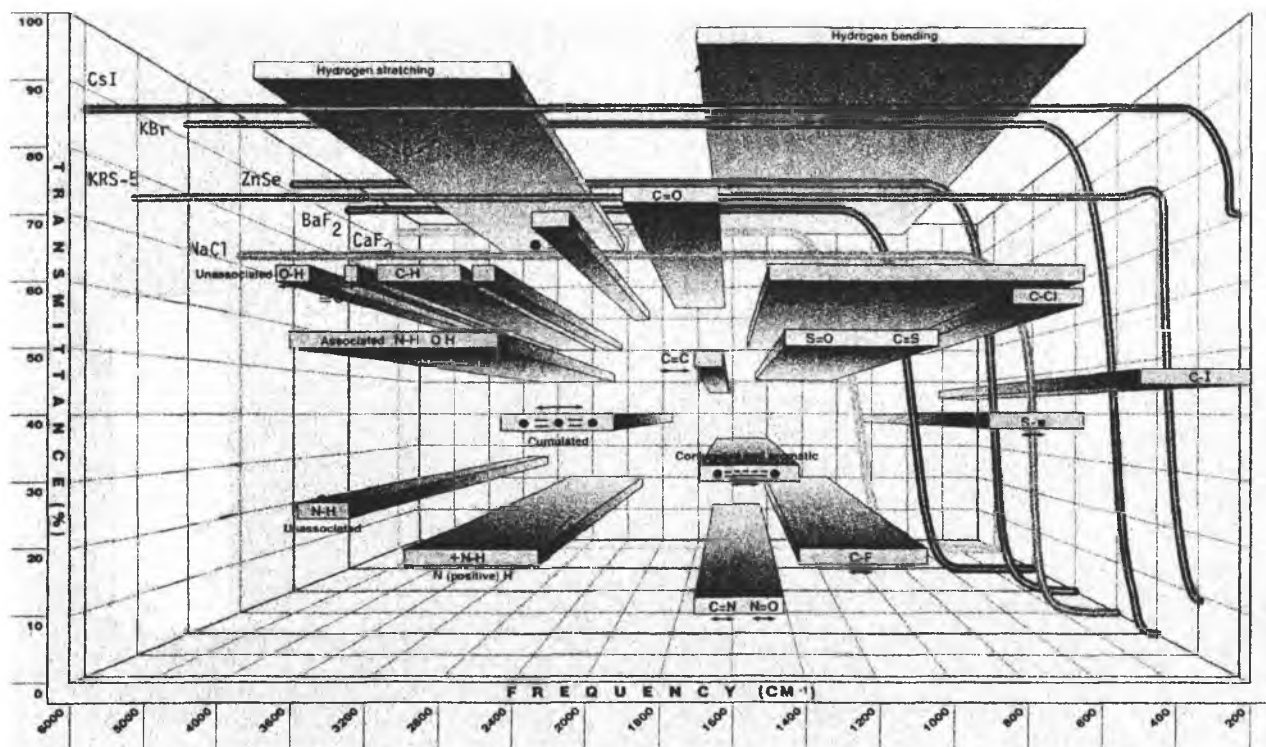


图9 结构和红外吸收带的相关图。红外窗口物质CsI, KBr, ZnSe, KRS-5, BaF<sub>2</sub>, CaF<sub>2</sub>和NaCl的透过范围也在图中列出 (Perkin-Elmer 公司提供)

IR光谱被解释后，就可以将未知化合物的结构限定为某几种。为了肯定的鉴别未知化合物，物理状态信息，熔点和沸点，溶解度和化合物的历史也应得到，还应进行燃烧实验、NMR和质谱分析。一旦未知化合物的结构被推导出来，其IR光谱即可与已有的参考光谱进行对比<sup>[5,6]</sup>。采用FTIR光谱仪，大量的红外光谱可被存储在计算机库中。当未知化合物的IR光谱被测得后，仪器可对库进行搜索以寻找具有最佳匹配度的光谱。

如果未知样品不是纯物质而是一个混合物，则需要对其从基质中分离。在大多数情况下混合物也能定性。化合物可通过重结晶、蒸馏、萃取、调pH或色谱法纯化分离。一旦分离步骤完成，纯的未知化合物即可按上述方法进行结构鉴定。

## 定量分析

被样品吸收的红外辐射与样品的浓度和光程成比例。

Beer-Lambert定律，式(7)描述了其数学关系：

$$A = abc = \epsilon b(\text{cmol. wt.}) A = \log(I_0/I) = \log(1/T) \quad (7)$$

式中：吸光度 $A$ 是透射率 $T$ 的倒数的对数（以10为底）； $T$ 是透过强度 $I$ 与入射光强 $I_0$ 的比。吸收系数 $a$ 是吸收度 $A$ 除以样品浓度 $c$  (g/L)和光程 $b$  (cm)的商。更常用的是摩尔吸收系数 $\epsilon$ ，它是浓度以mol/L为单位代替g/L时用的系数。

当光程恒定时，Beer-Lambert定律显示了在介质中吸光度与溶质浓度成正比的关系。Beer-Lambert定律只有在单色光时才有效。杂散光束（散射光），即没有按预期光路而达到检测器的光，分子间的相互作用如氢键随样品的浓度不同而变化，以及其他仪器因素如狭缝宽度，这些因素影响摩尔吸光系数结果造成偏离定律。为了准确分析未知样品的浓度，首先需要用标准溶液建立一个标准曲线，然后在相同条件下测定未知样品的吸收度，从校正曲线上得出样品的浓度。对于这种方法，最好将样品稀释到较低浓度（<2%）。

如果校正曲线已经建立好, 并且测定条件没有改变, 未知样品的浓度有时候可通过一点校正样品测定。未知样品的浓度按式(8)计算:

$$\begin{aligned} A_{\text{std}} &= c_{\text{std}} \\ A_{\text{unk}} &= c_{\text{unk}} \end{aligned} \quad (8)$$

在这种情况下, 样品的校正曲线需要周期性的测定以确保 Beer-Lambert 定律的线性依然有效。

对于单一组分的定量分析, 应选用 IR 光谱中相对而言较少有重叠峰的干扰的强的吸收带。光谱强度可以是以透过率为单位也可以是以吸光度为单位。

入射光强度 ( $I_0$ ) 和透射光强度 ( $I$ ) 的可按图 10 的基线测定方法测定。在 FTIR 光谱仪中, 计算机可将透过率转换成吸光度, 从样品光谱中减掉溶剂的干扰, 建立校正曲线和计算未知样品浓度。

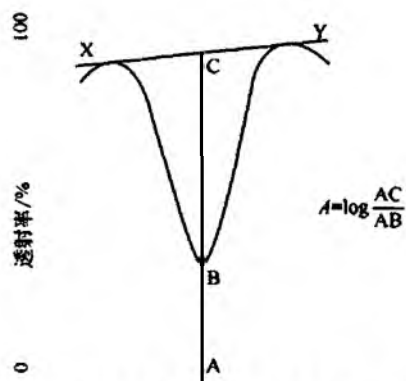


图 10 基线测量方法的阐述 (摘自文献 [29])

对于混合物样品经常存在谱带重叠情况的多组分定量分析, 吸收带的选择数量需要等于待测组分数 ( $n$  个组分)。需要准备一系列包含已知浓度的待测组分数范围的标准混合物 (至少  $n$  个)。所得方程式组应用化学计量学技术, 通过计算机解代数矩阵来得到最终的结果。这种定量分析的准确度随着混合物中待分析的组分数的增多会下降。

## 应用和最新进展

随着采样技术、软件和仪器设计技术的不断改进, 出现了越来越多的高级 FTIR 光谱仪。分析化学杂志每两年总结一次分析技术在各领域的最新进展, 包括红外光谱技术, 大多情况是在逐年基础上的。

### 1. 联用技术

联用技术指同时采用多种分析技术以解决问题和进行基础研究。许多类型的报道见于科学期刊。将 FTIR 技术与色谱技术联用于测定流出液中物质结构的研究频繁见于报道。这些系统设计用于检测流出液或得到其光谱。许多改进集中于采样技术和 FTIR 系统与色谱系统之间的接口技术以改进系统的性能。

对于 GC-FTIR、顶空 GC-FTIR 或 GC-FTIR-MS 技术,

经常使用光管气体池、直接沉积或基质分离装置。移动相是氦或氮气, 它们不会产生干涉。总体而言, 基质分离技术给出的图谱质量更好, 检测限也更好。采用这种技术可检测出皮克级的有机材料<sup>[7,8]</sup>。

对于 HPLC-FTIR、GPC-FTIR 或 SFC-FTIR, 接口的设计更为困难, 因为这些色谱系统的流动相一般都有很强的红外吸收。这样, 在测定红外光谱前去除流动相就非常重要。两个系统间的接口处, 需要使用流通池技术或流动相消除技术。最近在流动相消除技术方面有些进展<sup>[9~11]</sup>。在该系统中采用小的填充柱对于减小流动相的体积很有用<sup>[12,13]</sup>。

### 2. FTIR 显微镜技术

FTIR 显微技术是微量材料结构鉴定的主要方法。该方法是非破坏性的和非接触式的。当使用恰当的透射采样技术和适当的检测器, 检测限可达到皮克级。在制药工业, FTIR 显微镜被用于分析原料药物、添加剂和特殊污染物<sup>[14]</sup>。最新的研究显示将 FTIR 显微技术与 GC、HPLC、SFC 或 GPC 联用, 方法的检测限可得到充分改善<sup>[15,16]</sup>。

### 3. 红外分析仪

结合 FTIR 光谱仪的快速反应能力和合适的采样技术使红外分析仪成为生产过程在线检测的选择。IR 分析仪总体上紧凑、坚固、在工业现场容易操作。装配有微处理器或计算机的红外分析仪可快速鉴别或定量分析生产过程中的单组分或多组分样品。FTIR 广泛用于制造过程产品流程、废物流程的在线监测和环境空气监测<sup>[17~21]</sup>。

## 总结

红外光谱学是一门快速发展的分析技术。采样技术和分析软件已经得到了不断的改革和创新。红外光谱法可分析许多不同形式的样品。其灵活性已使得红外光谱法成为当今分析实验室中最重要的分析技术之一, 特别是对于痕量污染物的分析。

### 参考文献

1. Duerst, R. W.; Duerst, M. D.; Stebbings, W. L. Transmission Infrared Spectroscopy. Modern Methods of Applied Molecular Spectroscopy; John Wiley & Sons: New York, 1998.
2. Duerst, R. W.; Stebbings, W. L.; Lillquist, Gerald, J.; Westberg, James, W.; Breneman, William, E.; Spicer, Colleen, K.; Dittmar, Rebecca, M.; Duerst, Marilyn, D. Depth Profiling and Defect Analysis. Practical Guide to Infrared Microspectroscopy; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
3. Willard, H. H.; Merritt, L. L., Jr.; Dean, J. A.; Settle, F. A., Jr. Instrumental Methods of Analysis, 7th Ed.,

- Wadsworth Publishing Co.; Belmont, CA, 1988.
4. Silverstein, R. M.; Bassler, G. C.; Morrill, T. C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1991.
  5. Pouchert, C. J. Ed. *The Aldrich Library of Infrared Spectra*, 2nd Ed.; Aldrich Chemical Co.: Milwaukee, 1975.
  6. Sadtler Research Laboratories. *Catalog of Infrared Spectrograms*; Philadelphia (A Continuously Updated Subscription Service) .
  7. Holloway, T. T.; Fairless, B. J.; Freidfine, C. E.; Kimball, H. E.; Kleopfer, R. D.; Wurrey, C. J.; Jonoby, L. A.; Palmer, H. G. *Appl. Spectrosc.* 1988, 42, 359—369.
  8. Bourne, S.; Haefner, A. M.; Norton, K. L.; Griffiths, P. R. *Anal. Chem.* 1990, 62, 2448—2452.
  9. Lange, A. J.; Griffiths, P. R.; Fraser, D. J. *Anal. Chem.* 1991, 63, 782—787.
  10. Griffiths, P. R.; Haefner, A. M.; Norton, K. L.; Fraser, D. J. J.; Pyo, D.; Makishima, H. J. *High Resol. Chrom.* 1989, 12, 119—122.
  11. Norton, K. L.; Lange, A. J.; Griffiths, P. R. J. *High Resol. Chrom.* 1991, 14, 225—229.
  12. Jinno, K.; Fujimoto, C. J. *Chrom.* 1990, 506, 443—460.
  13. Fujimoto, C.; Jinno, K. *Trends Anal. Chem.* 1989, 8 (3), 90—96.
  14. Clark, D. A.; Nichols, G. *Anal. Proc.* 1990, 27, 19—21.
  15. Fraser, D. J. J.; Norton, K. L.; Griffiths, P. R. *Pract. Spectrosc.* 1988, 6, 197—210.
  16. Bergin, F. J. A. *Appl. Spectrosc.* 1989, 43 (3), 511—515.
  17. Coates, J. P.; Rein, A. J.; Morris, K. S. *Am. Lab.* 1988, 20 (2), 117—124.
  18. Morris, K. S.; Rein, A. J. *Am. Lab.* 1988, 20 (11), 46—52.
  19. Fuller, M. P.; Garry, C.; Stanek, Z. *Am. Lab.* 1990, 22 (15), 58—69.
  20. Wilks, P. A. *Am. Lab.* 1991, 26C—26E.
  21. McIntosh, B. C.; Vidrine, D. W.; Doyle, W. M. *Am. Lab.* 1991, 23 (18), 19—22.
  22. Beckett, A. H.; Stenlake, J. B. *Practical Pharmaceutical Chemistry*, 3rd Ed.; Athlone Press, University of London: London, England, 1976; 2, 331—360.
  23. Crooks, J. E. *The Spectrum in Chemistry*; Academic Press: New York, 1978.
  24. Duerst, R. W.; Duerst, Marilyn D. *Transmission Infrared Spectroscopy. Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy*; Mirabella, F., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1998.
  25. Duerst, R. W.; et al. *Depth Profiling and Defect Analysis of Films and Laminates; An Industrial Approach. A Practical Guide to Infrared Microscopy*; Hurnecki, H., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
  26. Griffiths, P. R.; de Haseth, J. A. *Fourier Transform Infrared Spectrometry. Chemical Analysis*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1986; 83.
  27. Hannah, R. W.; Swinehart, J. S. *Experiments in Techniques of Infrared Spectroscopy*; Perkin-Elmer: Norwalk, CT, 1974.
  28. Krishnan, K.; Hill, S. L. *FT-IR Microsampling Techniques*; Bio-Rad Digilab Division: Cambridge, MA, 1990.
  29. Miller, R. G. J.; Stace, B. C. *Laboratory Methods in Infrared Spectroscopy*, 2nd Ed.; Heyden Press, (Wiley), New York, 1979.
  30. Stewart, J. E. *Infrared Spectroscopy: Experimental Methods and Techniques*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1970.

(唐海霞 译)

## 光谱分析方法：近红外光谱技术

Emil W. Ciurczak

Purdue Pharma LP, Ardsley, New York, U. S. A.

### 引言

近年来,近红外(NIR)光谱技术越来越受到关注。随着仪器技术和算法技术的发展,这种使用方便操作简单的分析技术正发挥着越来越广泛的作用。NIR的物理特性决定了该分析技术无需对样品进行预处理。NIR的吸收带起源于中红外(MIR),但吸收强度要比中红外低得多,检测器噪声变小,光源能量变强。NIR光能穿透较深,这使得该技术可用于药片和大批原料的快速分析(见表1)。

NIR光谱区间介于可见光和中红外之间,光谱范围被定义在650~2500nm(15 400~4000cm<sup>-1</sup>)。而中红外或传统红外光谱源自于分子伸缩、弯曲、旋转等的基频吸收,其光谱范围为2500~25 000nm(4000~400cm<sup>-1</sup>)。

典型NIR光谱具有以下几个方面的特点:

(1) 吸收强度比中红外低10~1000倍,吸收峰相应比中红外小。这使得它可用于分析含量很高或纯的样品。

(2) 所有的O—H、N—H、C—H和S—H等含氢基团的高倍(第一到第六)倍频吸收甚小均在NIR区域。除此之外,合频吸收(如蛋白质中C=O双键伸缩吸收和N—H键的弯曲吸收)也会增加NIR光谱的谱带拥挤重叠的程度。

(3) 由于吸收率低,使得NIR辐射无论是在纯物质还是混合物中穿透的距离更深。无须对样品进行溶解、研磨或使用惰性盐稀释,因此保证了样品的完整性,而且也不会破坏样品的晶型、多聚物的聚合态、颗粒尺寸、表面与品格间湿度比等。

由于具有这些与MIR不同的特点,标准的IR和UV/VIS/NIR光谱仪难以处理非常规的药品样品。

### 硬件

最初,有关NIR光谱分析的工作是在那些主要为紫外或可见光分析设计的仪器上进行的,光谱的NIR部分是当时这些商业型仪器公司随后才想到的,包括:Beckman, Cary, Coleman, Perkin-Elmer, Shimadzu, Unicam和Zeiss等公司。最早的专用NIR仪器是采用干涉滤波片的,这些工作是由美国农业部(Beltsville, MD)的Karl Norris在前述的UV/VIS/NIR仪器上进行的。他建立了一些谷物和其他农产品相关的许多重要波长点,这些重要的波长点被用于指导最初的NIR光谱仪的滤波片的设计。后来,滤波片也被用于烟草和纺织工业。

第一台商业专用NIR仪器由Dicky-John于1971年在

Illinois State Fair开发。这项技术被授权给Technicon公司,并很快进入市场。Technicon公司后来自己开发了基于单色光的扫描型仪器,随后,被Pacific Scientific(现在的FOSS-NIR系统)和LT Industries进行模仿,并产生了一些新的公司。

20世纪80年代后期以及90年代前期,那些生产红外光谱仪的厂家开发了以干涉仪为基础的仪器,它们是Nicolet, Boman, Perkin-Elmer及其他。通常,这些FT-NIR仪器只是简单地采用了FT-IR已经采用的技术,它们不适用于制药工业中的样品:纯原料、混合和造粒、药片和胶囊及大的塑料容器。

许多仪器供货商像专门工程机构一样能够在生产过程中安装NIR在线系统(表2)。为了解最新的制造商列表,新手们(或者有经验的老用户)都应该浏览Internet,参加PittCon、IFPAC及其他如国际漫反射(Chambersburg, PA)或国际NIR协会(轮流在欧洲和亚洲举行)等会议。

表1 NIR在药品行业中的典型应用

定量分析	定性分析
纯原料湿度检测	纯原料鉴别
冻干材料湿度测定	混合物的鉴别
纯原料平均颗粒尺寸	纯原料的质量鉴定
混合物/造粒的平均颗粒尺寸	混合物的质量鉴定
混合过程均匀度分析/监测	临床制剂的剂型鉴别
药片/胶囊含量一致性分析	包装材料鉴别
包衣水平分析	
崩解时间预测	
药片硬度测定	
降解产品(药片)	
多晶型分析	
结晶度分析	

### 软件

实际上,直到20世纪80年代之前,还没有NIR分析的软件。Technicon(Tarrytown, NY)和Pacific Scientific(Silver Spring, MD)为他们的基于单色扫描(全息光栅)型仪器提供了软件,通过软件运行仪器、采集光谱、执行简单的计算。当时,NIR所用到的唯一算法是多元线性回归作为核心数据处理方法(逐步搜索和最佳拟合)。20世纪80年代后期,才有了光谱平滑和导数处理等方法,但基本没有高级数学处理方法。

整个20世纪80年代,个体研究者都在开发主成分分

第一个商业性定性分析软件由 Technicon 于 1984 年<sup>[1,2]</sup>提供,它基于马氏 (Mahalanobis) 距离,对物料在不同点的吸光度来进行归类。这被第一次用于进口原材料。事实上,从那以后,每个仪器厂商都能够提供定性和定量软件,常用于工业条件下进口原料的鉴别和质量评价。

(3) 分子多晶性, 结晶度。1985 年<sup>[13]</sup>咖啡因的多晶性的测定报道是最早的 NIR 光谱法测定多晶性的报道之一。

(4) 对映体/结构异构体。药物采用特定的光学异构体相当重要。例如, 奎宁用于治疗疟疾, 而其光学异构体奎尼丁则用于治疗心律不齐。1985 年, Ciurczak<sup>[21]</sup>发现虽然 D 型和 L 型氨基酸的光谱一致, 但外消旋混合物 (DL) 却会产生完全不同的光谱。Ciurczak 在 1986 年<sup>[22]</sup>开展了一些相关工作, 1988 年, Buchanan 等<sup>[23]</sup>对其进行了扩充并进行了报道, 其中, 通过 NIR 测定了对映体的比例。

仪器类型	代表性供应商
干涉滤光片	Bran & Leubbe Dickey-John, Churchill Factory of L. I. (Hungary) Foss Electric General Analysis Corp. Infrared Engineering Moisture Systems Corp. Oxford Analytical, Inc. Percon GmbH Perten Trebor Industries
扫描光谱	Bran & Leubbe EG&G Princeton Applied Research Foss-NIRSystems Guided Wave, Inc. Hitachi Instruments, Inc. L. T. Industries Shimadzu Trebor Industries Tecator AB Varian
干涉仪	Bran & Leubbe Bomem, Inc. Buchi Mattson Instruments Midac Corp. Nicolet Instrument Corp. Perkin-Elmer Corp.
声光可调滤光片	Bran & Leubbe Brimrose Corp.

续表

仪器类型	代表性供应商
阵列二极管	EG&G Princeton Applied Research
	Infrared Fiber Systems
	L. T. Industries
	Rosemont
	EG&G Princeton Applied Research
	KES Analysis
	Perten

Mustillo 等<sup>[24]</sup>撰写了一篇论文讨论光学活性溶剂对对映体混合物光谱的影响。这些信息曾被用作一种在外消旋混合物的正相色谱中极性修饰剂的筛选技术<sup>[25]</sup>。2000 年, Agatonovic-Kurstrin 等测定了固体状态下布洛芬光学异构体的组成<sup>[26]</sup>。

结构和几何异构体以及几乎相同的分子也可以通过 NIR 进行鉴别。1985 年, Kradjel 等<sup>[27]</sup>进行了一些前期工作。采用 NIR 光谱法已经对聚乙烯吡咯烷酮的类型进行了成功测定<sup>[28]</sup>, 不同类型之间的唯一差别在于聚合条件不一样。

(5) 质量评估和鉴别。在一系列相关的文献中, Rose<sup>[29]</sup>在 1982 年首先通过 NIR 鉴别和测定了一些结构相似的青霉素类药物。在 Sandoz、Ciurczak 于 1984 年报道了基于马氏距离的算法鉴别原料<sup>[30]</sup>。Ciurczak 还报道了对原料使用光谱匹配 (SM) 和主成分分析 (PCA) 技术<sup>[31]</sup>并在 1986 年<sup>[32]</sup>提出了一个用于说明样品差异、更完善的方程。从那以后, NIR 光谱法被世界各地的工厂用于对原料进行鉴别。

(6) 混合均匀性。一个早期关于跟踪干物混合过程均匀性潜力检测的报道<sup>[33]</sup>后来 Ciurczak 于 1990 年<sup>[34]</sup>进行了发展并发表了一篇论文, 在一个混合器上插入光纤探头, 并通过光纤探头检测不同位置 and 不同深度的光谱, 使用 SM 和 PCA 程序将这些光谱与混合完全均匀的光谱进行比较。

1999 年 Blanco 等<sup>[35]</sup>发表了一篇相似的论文, 他们同样使用光纤探头在混合器停止运行的情况下检测, 结果显示迄今较其他混合 NIR 光谱为一有用的工具。有关混合均匀性检测的深入研究见于 1996 年 Drennen 等<sup>[36]</sup>的论文, 他们采用漫反射 NIR 技术在氢氯噻嗪混合过程通过连续取样和分析来监测混合均匀性。

Pfizer (辉瑞) 公司的员工设计了一个特殊为 V 形混合器 “V-Blender” 的专用装置并申请了专利, 在 1996 年 Sekulic 等<sup>[37]</sup>的论文中对此进行了描述, 该设计将一个光纤探头永久地插在混合器的一个轴上。DeMaesschalck 等在 1998 年使用这个装置发表了一篇论文, 该论文的重要性在于非 Pfizer 的员工也能成功使用该装置。

还有一篇论文<sup>[38]</sup>描述了研究采用在一个混合器上安装两个检测点并利用二维图像技术对样品一致性进行测定的工作, 这种方法利用了多个测量点和 NIR 的速度, 该论文还描述了用平面的二维图像技术评价均匀性。

DeMaesschalck 等<sup>[39]</sup>和 Bemtsson 等<sup>[40]</sup>的论文重点讨

论了跟踪混合均匀性检测和活性组分在线分析的数学处理方法。

(7) 湿度。与 MIR 一样, 水分对 NIR 光也有强烈的吸收, 这就为产品中水分含量的测定奠定了基础。例如, Warren 等<sup>[41]</sup>利用 NIR 测定了甘油酯中水分的含量, 用不同含水量的丙烯乙二醇和甘油的透射光谱建立模型并用于水分含量测定。

1987 年 Torlini 等<sup>[42]</sup>的论文描述了原料总含水量、结晶水 (bound water) 含量和表面水含量之间的相关性, 三类水分含量采用 Karl Fischer 滴定、差热分析 (DSC) 和热失重分析 (TGA) 进行了测定, 并建立它们与 NIR 光谱间的校正模型。NIR 可以从结晶水区别出表面水, 而标准的干燥失重法 (LOD) 则不能。

在最近的一篇论文中, Derksen 等<sup>[43]</sup>阐述了采用 NIR 光谱法透过玻璃瓶测定含有不同活性物质的冷冻干燥样品中水分含量。

Rantanen 等<sup>[44]</sup>在 2000 年讨论了造粒过程水分含量的在线检测, 在溶液中加入一个结合件用于检测残留水含量, 为减小颗粒尺寸的影响, 对光谱进行了导数处理, 尽管最初使用的仪器是全扫描型的, 但使用固定波长的仪器同样可以满足作者的应用, 这是对简单过程分析的一个重要介绍。

Ciurczak 在最近的一篇论文<sup>[45]</sup>中讨论了一个相似的简单的单波长装置, 他展示了一个 “Spark plug” 型的红外光源与检测器组成的小装置。该装置必将能够为相似的应用很快得到 NIR 范围内的光谱。

(8) 临床供应品。NIR 一个快速增长的应用方面是不同临床剂型和做成看似一样的安慰剂的判别分析。通常情况下, 无标记的药片和胶囊按特定的方式被摆放在水泡眼包装中, 患者和护理医生都不允许判断哪个是活性药品 (被称为 “双盲”)。

NIR 在临床样品中早期应用见 Aldrich 等<sup>[46]</sup>1996 年的论文, 采用光纤探头直接透过水泡眼包装的聚合物材料扫描样品光谱。它显示了 NIR 光谱的判别能力。

Ritchie 在两篇论文<sup>[47,48]</sup>中依据 cGMP 规范对 NIR 定性分析进行了描述, 由于临床样品批号非常多, 因此很难在一个实际临床试用前收集到足够的样品以建立一个判别方程, 为此他们提出了一个方法, 按这个方法可以为某个特殊的研究快速的建立一个判别方程以用于试验安慰剂及有效剂, 并于剔除, 这样, 每个研究认证程序只需要半天时间。

(9) 含量一致性分析。常见的一个问题是 NIR 什么时候可以被用于出厂检测。早期的 NIR 分析中, 药片和胶囊不能进行无损检测。在扫描之前, 活性物质要被提取出来并作为一个纯净的液体进行扫描。第一次用 NIR 分析药片的报道见于 1968 年<sup>[49]</sup>, Sherken 分析了商业样品药片混合物中安宁的浓度。Allen<sup>[50]</sup>用 NIR 分析了一个三组分混合物: 卡立普多、非那西汀和咖啡因, 粉末用氯仿进行萃取然后扫描 NIR 光谱。几篇其他的文献也利用了 “提取 + 扫

描”方法的优点<sup>[51,52]</sup>。

第一篇粉末样品分析的论文由 Becconsall 发表于 1981 年<sup>[53]</sup>，它描述了普萘洛尔和碳酸镁混合物的分析。1987 年，Ciurczak 等<sup>[54]</sup>发表了分别用反射和透射方式分析固体和液体制剂的论文。

1987 年，Chasseur 分析了西咪替丁颗粒<sup>[55]</sup>，第一次报道用配置样品的办法建模，校正样品的浓度范围被配置在标示量的 70%~130% 之间。1987 年，Osborne<sup>[56]</sup>用 NIR 光谱法分析了维生素预混合物中的烟碱。

1988 年，Jensen 等用 NIR 光谱法分析了胺碘酮药片<sup>[57]</sup>，使用的方法有点原始：将药片刮去包衣并粘在铝盘上，采用反射法采集光谱，用到了 6 个波长点。

20 世纪 90 年代前期出版刊载了两章关于固体制剂分析的讨论。以出席第四届国际 NIRS 会议<sup>[58]</sup>的描述介绍为基础，Stark 用一个新发展起来的二极管阵列光谱仪扫描 520~1800nm 之间以分析试样，样品被放置在玻璃滑片上，光线以一个固定的角度进行采集，对乙酰氨基酚、布洛芬和抗酸剂药片无损地采集到了光谱。

在第二章<sup>[59]</sup>，Monfre 和 DeThomas 以一种治疗血管扩张的处方的分析为例写了一些关于 NIR 仪器校正方面的问题。使用个别的药片，仍然需要压碎进行分析。其的意义在于没有人为配置药片以扩大浓度范围，而只是使用了在标示量的 96%~102% 范围的成品样品，NIR 的结果与 HPLC 的差别在 0.5mg 范围内。

Borer 等在 1998 年<sup>[60]</sup>研究了使用 NIR 来分析药片时误差的主要来源，对由于活性成分的差异和仪器自身带来的误差均进行了统计分析，结果显示，样品窗（光束大小）、求导数时的窗口大小、测量和仪器校正的天数间隔以及药片分析时的方向都有一些重要影响。该研究证实了用透射法分析药片的价值，因为透射分析时药片的方向和光路都是固定的。

NIR 也用于测定硬脂酸镁浓度变化和压力变化对药片分析的影响<sup>[61]</sup>。不同类型（主要是颗粒尺寸不同）的 Avicel（微晶纤维素）以不同的压力压成含有和不含硬脂酸镁润滑剂的药片，并以不同的数学处理方法来测定这些差异或观察其对分析结果的影响。

## 结论

前面列出的一些应用并不是想对所有人的工作和 NIR 领域的发现进行全面罗列。更确切地，它更是一个总体概括，可被作为信息收集的起点。通过对在此引用的文献作者的搜索，将可以搜索到那些以他们的工作为当前研究基础的研究者，这样跟踪搜索下去将会给予分析师以大大扩充后续的作者列表，以便有更多的发现。

## 参考文献

1. Mark, H. L.; Tunnell, D. *Anal. Chem.* 1985, 57, 1449.
2. Ciurczak, E. W. *Annual Symposium on NIRA*. 7th Tech-

nicon; Tarrytown NY, 1984.

3. Sinsheimer, J. E.; Keuhnelian, A. M. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55, 1240-1244.
4. Oi, N.; Inaba, E. *Yakugaku Zasshi* 1967, 87, 213-215.
5. Sinsheimer, J. E.; Poswalk, N. M. *J. Pharm. Sci.* 1968, 57, 2006-2010.
6. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the 1st Pan American Conference*, October, 1985, San Juan, PR.
7. Ciurczak, E. W.; Torlini, R. P.; Demkowitz, M. P. *Spectroscopy* 1986, 1 (7), 36.
8. Ilari, J. L.; Martens, H.; Isaksson, T. *Appl. Spectrosc.* 1986, 45 (5), 722.
9. O'Neil, A. J.; Jee, R. D.; Moffat, A. C. *The Analyst* 1999, 124, 33-36.
10. Morisseau, K. M.; Rhodes, C. T. *Pharm. Res.* 1997, 14 (1), 108.
11. Ebube, N. K.; Thosar, S. S.; Roberts, R. A.; Kemper, M. S.; Rubinovitz, R.; Martin, D. L.; Reier, G. E.; Wheatley, T. A.; Shukla, A. J. *Pharm. Develop. Tech.* 1999, 4 (1), 19-26.
12. Kirsch, J. D.; Drennen, J. K. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1999, 19, 351-362.
13. Ciurczak, E. W. *Proceedings FACSS October 1985*, Philadelphia, PA.
14. Gimet, Luong, T. J. *Pharm. Biomed. Anal.* 1987, 5, 205-211.
15. Aldrich, P. K.; Evans, C. L.; Ward, H. W.; Colgan, S. T.; Gemperline, P. J. *Anal. Chem.* 1996, 68 (6), 997.
16. DeBraekeleer, K.; Cuesta Sanchez, F.; Hailey, P. A.; Sharp, D. C. A.; Pettman, A. J.; Massert, D. L. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1998, 17, 141.
17. Caira, M. R. *Topics in Current Chemistry*; Springer Verlag; Berlin, 1998.
18. Blanco, M.; Coello, J.; Iturriaga, H.; Maspocho, S.; Perez-Maseda, C. *Anal. Chim. Acta* 2000, 407, 247-254.
19. Patel, A. D.; Luner, P. E.; Kemper, M. S. *Internat. J. Pharmaceut.* 2000, 206, 63-74.
20. Bauer, H.; Herkert, T.; Bartels, M.; Kovar, K.-A.; Schwarz, E.; Schmidt, P. C. *Pharm. Ind.* 2000, 62 (3), 231-235.
21. Ciurczak, E. W. *Proceedings FACSS October 1985*, Philadelphia, PA.
22. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the 26th Annual Conference Pharmaceutical Analysis August, 1986*, Merrimac, WI.
23. Buchanan, B. R.; Ciurczak, E. W.; Grunke, A.; Honigs, D. E. *Spectroscopy* 1988, 3 (9), 54.
24. Mustillo, D. M. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the*



- Eastern Analytical Symposium November Somerset NJ.
25. Ciurczak, E. W.; Dickinson, T. A. *Spectroscopy* 1991, 6 (7), 36.
  26. Agatonovic-Kustrin, S.; Beresford, R.; Razzak, M. *Anal. Chim. Acta* 2000, 417, 31–39.
  27. Kradjel, C.; Ciurczak, E. W. *Proceedings of the 1st Pan American Chemical Conference*, October 1985, San Juan PR.
  28. Kreft, K.; Kozamernik, B.; Urleb, U. *Int. J. Pharmaceut.* 1999, 177, 1–6.
  29. Rose, J. J.; Prusik, T.; Mardekian, J. J. *Parenter. Sci. Technol.* 1982, 36 (2), 71.
  30. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the 7th Annual Symposium on NIRA Technicon*, Tarrytown, NY, 1984.
  31. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the AAPS National Meeting* November 1990, Las Vegas, NV.
  32. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the 9th Annual Symposium on NIRA Technicon*, Tarrytown, NY, 1986.
  33. Ciurczak, E. W. *Proceedings of the AAPS National Meeting* November 1990, Las Vegas, NV.
  34. Ciurczak, E. W. *Pharm. Tech.* 1991, 15 (9), 141.
  35. Blanco, M.; Coello, J.; Eustaquio, A.; Itturriaga, H.; Maspoch, S. *The Analyst* 1999, 124, 1089–1092.
  36. Wargo, D. J.; Drennen, J. K. J. *Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14 (11), 1414.
  37. Sekulic, S. S.; Ward, H. W., II; Brannegan, D. R.; Stanley, E. D.; Evans, C. L.; Sciavolino, S. T.; Hailey, P. A.; Aldrich, P. K. *Anal. Chem.* 1996, 68, 509–513.
  38. El-Hagrasy, A. S.; Morris, H. R.; D'Amico, F.; Lodder, R. A.; Drennen, J. K. J. *Pharm. Biomed. Anal.* in press.
  39. De Maesschalck, R.; Cuesta-Sanchez, F.; Massart, D. L.; Doherety, P.; Hailey, P. *Appl. Spectrosc.* 1998, 52 (5), 725–731.
  40. Berntsson, O.; Danielsson, L.-G.; Johansson, M. O.; Folestad, S. *Analyt. Chim. Acta* 2000, 419, 45–54.
  41. Warren, R. J.; Zaembo, J. E.; Chong, C. W.; Robinson, M. J. *J. Pharm. Sci.* 1970, 59 (1), 29.
  42. Torlini, R. P.; Ciurczak, E. W. *Proceedings of PittCon March*, 1987, Atlantic City.
  43. Derksen, M. W. J.; van de Oetelaar, P. J. M.; Maris, F. A. J. *Pharm. Biomed. Anal.* 1998, 17, 473–480.
  44. Rantanen, J.; Rasanen, E.; Tenhunen, J.; Kansakoski, M.; Mannermaa, J.-P.; Yliruusi, J. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 50, 271–276.
  45. Ciurczak, E. W. *Spectroscopy* 2001, 16 (1), 17–18.
  46. Aldrich, P. K.; Mushinsky, R. F.; Andino, M. M.; Lewis, C. L. *Appl. Spectrosc.* 1994, 48, 1272–1276.
  47. Ritchie, G. E.; Mark, H. L.; Ciurczak, E. W. *9th Diffuse Reflectance Conference*, August 1998; Chambersburg, PA.
  48. Ritchie, G. E.; Tso, C.; Ciurczak, E. W. *Proceedings of PittCon March* 2000, New Orleans, LA.
  49. Sherken, S. J. *Assoc. Offic. Anal. Chem.* 1968, 51, 616–618.
  50. Allen, L. J. *Pharm. Sci.* 1974, 63, 912–916.
  51. Zappala, A. F.; Post, A. J. *Pharm. Sci.* 1977, 66, 292–293.
  52. Corti, P.; Dreassi, E.; Corbini, G.; Lonardi, S.; Gravinna, S. *Analysis* 1990, 18, 112–116.
  53. Becconsall, J. K.; Percy, J.; Reid, R. F. *Anal. Chem.* 1981, 53, 2037–2040.
  54. Ciurczak, E. W.; Torlini, R. P. *Spectroscopy* 1987, 2 (3), 41–43.
  55. Chasseur, J. C. *Chim. Oggi* 1987, 6, 21–27.
  56. Osborne, B. G. *Analyst* 1987, 112, 313–315.
  57. Jensen, R.; Peuchant, E.; Castagne, L.; Roux, G. *Spectrosc. Int. J.* 1988, 6, 63–72.
  58. Stark, E. *Making Light Work; Advances in Near-Infrared Spectroscopy*; Murray, I., Cowe, L., Eds.; VCH; Weinheim Germany, 1991; 27–34.
  59. Monfre, S. L.; DeThomas, F. A. *Near-Infrared Spectroscopy: Bridging the Gap between Data Analysis and NIR Applications*; Hildrum, K. L., Ed.; Ellis-Horwood; Chichester UK, 1992; 435–440.
  60. Borer, M.; Zhou, X.; Hays, D. M.; Hofer, J. D.; White, K. C. J. *Pharm. Biomed. Anal.* 1998, 17, 641–650.
  61. Ebube, N. K.; Thosar, S. S.; Roberts, R. A.; Kemper, M. S.; Rubinovitz, R.; Martin, D. L.; Reier, G. E.; Wheatley, T. A.; Skukla, A. J.

(唐海霞 译)

## 光谱分析方法：漫反射光谱分析

Herbert Michael Heise

*Institute of Spectrochemistry and Applied Spectroscopy, Dortmund, Germany*

### 引言

在分子光谱学领域，对波长 200nm~20μm 范围内的电磁辐射能量的吸收测量可用于进行化学分析。传统地被称为紫外 (UV)、可见光 (VIS) 和红外 (IR) 光谱均有其指定的光谱区域，并分别给出有机物或无机物的特定信息。分子外层轨道电子能量的跃迁与前两个区域的光谱辐射相关，而振动光谱与红外区域相关。在此，可以进一步将红外光谱区间区分为近红外和中红外亚区，它们对于常规分析工作非常有用。

在经典的光谱实验中，经常采用透射法测定样品对辐射的吸收。如今，漫反射光谱技术已经成为一个有用的测量技术，它对于测量散射性的样品如粉末和其他分散体系具有优势。与透射光谱测量相比，它很少需要样品预处理。辐射能量穿进样品后被分散，在从样品表面反射回来之前部分能量被样品吸收，返回的能量被多种的光学和检测器检测到。除了化合物鉴定之外，活性成分和填充物的定量分析以及通常剂型的测试可通过借助特殊化学计量学工具得以实现。痕量分析和被吸附化学物质的分析则为附加的领域。在建立与分离技术如薄层色谱联用方法时，就需要用到漫反射技术。

### 测量技术的仪器问题

分子光谱在药物分析中扮演重要角色<sup>[1]</sup>。对于化学质量和过程控制，近红外 (NIR) 光谱技术在过去几年受到了人们的广泛注意。制药工业必须为原料进厂时的鉴别和产品下线前化学组成的鉴定发展快速分析装备和技术。一些速度快、无需许多样品预处理的技术适合于过程分析。进一步的应用包括实验室化合物合成过程的分析、竞争性产品的组成鉴别、添加剂和包衣的测定。对于检测限很低的情况需要另外讨论。为了取得更好的应用效果和更高的精度，仪器和样品预处理必须适应应用要求。

#### 仪器和附件

上述的光谱范围往往不可能被一台仪器同时覆盖。使用光栅单色器的仪器是记录 UV/VIS 和近红外的多用型仪器，根据待测的光谱范围不同，它装备有不同的检测器 [普通的硅检测器：200~1100nm，InGaAs 检测器：800~1700nm (光谱范围可扩充) 以及 PbS 检测器：1100~2500nm]。除了扫描型仪器外，也存在二极管阵列型仪器，它可以同时测定整个光谱范围。其他的测量技术还有使用

一组滤光片的，这些仪器广泛用于分析食品和农产品。有一个专门用于快速 NIR 光谱仪的技术是声光可控滤波器。提供宽范围的电磁光谱的辐射光源如卤钨灯可被发光二极管或可调激光替代，这样可扩充将来的光谱仪的应用能力。

红外光谱区间通常由傅里叶变换光谱仪承担，它有一个干涉仪用于分光色散。现在，光谱可直接由测得的干涉图通过傅里叶变换计算得到。这种仪器可以在较短时间内获得比基于单色器的仪器更好的光谱质量。对于中红外，使用热检测器如氘代三甘油硫酸酯 (DTGS) 或快速高灵敏度时用的液氮冷却光电检测器如汞镉碲 (MCT)。而对于近红外，使用 InGaAs 和锗或 InSb 等光电检测器。Coates<sup>[2]</sup>回顾了近年来仪器的发展。对于红外光谱，习惯使用波数作为横坐标 (由波长  $\lambda$  转变而来，如波长以  $\mu\text{m}$  为单位对应于波数为  $\bar{\nu}$ ，单位  $\text{cm}^{-1}$  时，波长与波数的关系为  $\bar{\nu}=10\,000/\lambda$ )。

测量漫反射光谱的附件有多种，除了一些不同研究组开发的和文献中描述的专门装置外，一些市场上存在的类型值得一提。一些附件的示意图见图 1，它们是不同的光学附件的代表。长期以来一直使用积分球，特别是 UV/VIS 和近红外光谱，尽管也有一些高灵敏度 MCT 检测器用于中红外的应用<sup>[3]</sup>。通常在积分球中放一个遮挡片，使它防止辐射能量直接打到检测器，检测器可以收集各个角度的散射光 [半球采集，图 1 (a)]。

作为替代方法，一种基于椭圆形镜子的反射光学组件正被广泛使用。一些商业附件值得注意，其中之一是 Spectra-Tech's Collector [图 1 (b)]。为了减少镜反射，在样品表面上方和光轴垂直的方向使用了一个阻隔装置。另一个附件是 Harrick 公司所谓的 praying mantis (其名字由其外形得来的)，它使用了非平面的光学几何学设计以避免样品表面的 Fresnel 反射。图 1 (c) 所示的装置是我们为改善收集漫反射的光子而设计的装置，该装置的优点是可以优化辐射和检测光通量。该设计的另一个优点是大样品上的一个点也可被分析到，其应用可见 Heise 相关文献<sup>[4]</sup>。Yang 等<sup>[5]</sup>给出了不同类型漫反射附件的评价，特别是镜反射和漫反射的区别。对于一个吸收很强的无机物与无红外吸收的 KCl 粉末基质的混合物很严格的测试，可以发现得到的光谱中的镜反射组分主要是样品，而与附件无关。

另外一种附件是由光纤构成。一种适合于 UV/VIS 和 NIR 的材料是石英，一种低—OH 等级的特殊石英，使得其穿透能力特别好，特别在长波长处。与基于反射的镜子的系统相比，由于其光导纤维的核心/包层的外形的不同，

导致接受锥体对辐射能量的收集的减小 [图 1 (d)]。双聚焦光纤束经常用作附件, 辐射能量传导的光纤与另一条光纤束随机混合将反射能量导入到检测器上。这类光纤探头

的灵活性非常好, 也可用于测量粉末样品, 如敞口桶中的样品。

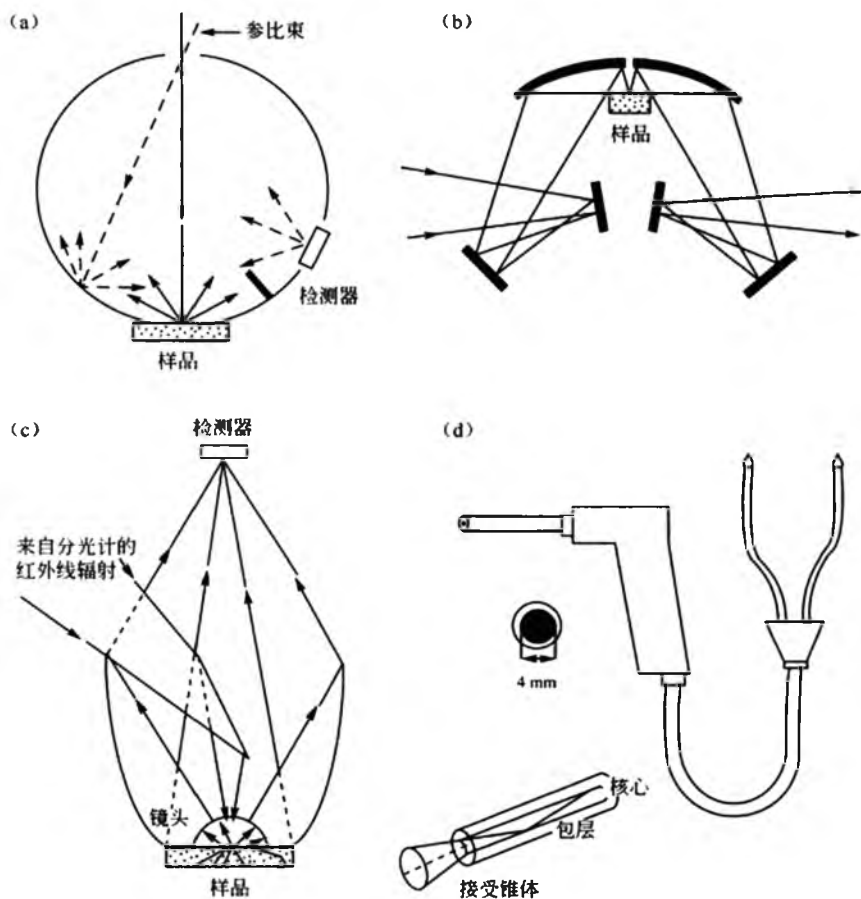


图1 漫反射光谱的附件: (a) 采用半球辐射采集的积分球; (b) 基于椭球面镜的附件, 在分光计的样品仓内使用; (c) 带有专用检测器的旋转椭球面镜装置; (d) 双聚焦的光纤束附件 (也显示照射和检测光纤的随机混合, 与基于反射光的装置相比, 用于辐射传递和收集的接受锥体受到限制, 且依赖于核心和包层材料的折射率)

样品的漫反射测量通常以一个反射率接近 100% 的材料作为参考, 与透射测量一样 [反射测量的一套标准物可由 Springsteen<sup>[6]</sup> 提供]。通常积分球内表面用新鲜的  $\text{MgO}$  或  $\text{BaSO}_4$  涂布。对于光谱范围 200 ~ 2500 nm, 目前 Spectralon<sup>TM</sup> (Labsphere, North Sutton, NH) 是最好的材料, 因为它的惰性、容易处理和使用。它是一个白色的热塑性树脂, 在 400 ~ 1500 nm 范围的反射效率高于 0.99, 而在 2500 nm 以上范围高于 0.95。对中红外, 通常更多使用 KBr 粉末或不同等级镀金的砂纸。一种商用的标准材料可以从上面所说的同一个公司获得—InfraGold, 是在一个表面粗糙的物质上面镀有多层金属。它在其光谱范围 1 ~ 25  $\mu\text{m}$  内显示出 0.94 ~ 0.96 的反射率。对于样品的稀释, 碱金属卤化物之外的一些材料也值得推荐, 相关内容将在后面进行叙述。

## 理论问题

光谱学研究中有多种测量技术可以采用。光线和样品的相互作用有吸收、透射和反射。通常, 在没有散射的情况下可以运用 Beer-Lambert 定律。样品表面的反射可以是镜反射, 特别对那些表面平整光滑的情况 (也称 Fresnel 反射), 而对于粉末等粗糙表面的样品通常是漫反射。许多情况下, 反射通常会同时包含镜反射和漫反射, 而镜反射可严格按照 Fresnel 方程进行处理, 对于漫反射等存在散射的情况的处理则很复杂。对于分散体系, 样品与光线的相互作用现象需要深入阐释。当光线穿入分散样品时, 射入的能量部分被吸收部分被散射, 所以反射也就成了漫反射。这些漫反射能量对于分析应用来说十分有益, 用一些特殊

的线性函数,对漫反射信号进行处理后,可以在其与浓度间建立定量关系。

正如一些研究者的经验所示,通过求 $-\log(\text{反射率})$ ,类似于透射率的测量,如果在样品基质的吸收不是很强,如 NIR 分析中<sup>[7]</sup>,变换后的反射率与浓度之间的线性关系可以被获得。这个问题将在后面进行详述。一些基于物理模型的方法首先被用于 UV/VIS 分析,后来也被用于中红外。Kubelka 等<sup>[8]</sup>提出了一个简单、一维的二变量理论模型,尽管 1905 年 Arthur Schuster 就已经讨论过反射方程中的等方向性散射问题。Kortüm<sup>[9]</sup>进行了理论和应用方面的详细描述。光学吸收和散射特性分别可由吸收系数和散射系数  $k$  和  $s$  所描述。对于漫反射光谱,反射率经 K-M 方程转换后,可在吸收带强度和浓度间建立线性关系(单位通常用 K-M 单位):

$$F(R) = (1 - R_{\infty})^2 (2R_{\infty}) = k/s$$

式中:  $R_{\infty}$  为无穷厚样品的反射率(在近红外中,通常需要 5mm 或更厚)。该理论近年来被 Loyalka 等<sup>[10]</sup>重新引用过,他们重新考察了 K-M 方程的准确性。他们发现  $k$  必须用  $k=2a$  取代,吸收系数  $a = \ln(10) \epsilon c$ , 一如 Beer-Lambert 定律所推导的。 $\ln(10) = 2.303$ ,  $\epsilon$  是摩尔吸光系数;  $c$  是摩尔浓度。 $k$  的这种能由  $\epsilon$  推导的依赖关系被许多生物医学领域的研究者早期用更细微的辐射转换理论比较讨论过,如文献 [11]。

必须记住, K-M 理论只是为定量分析提供的一个经验方程。为了推导上述方程,须有几个假设作前提,如无限侧面延伸和无限光学厚度,样品各向同性和漫照射,最后一个假设在直接样品照射占优的情况下就不满足。对于各向同性散射样品,一个被称为 NIR 三变量近似变换方法以推导散射和吸收系数,近来用于药物粉末和混合物的分析<sup>[12]</sup>。早期, Hecht 比较研究了可见光分析时的几种建模方法<sup>[13]</sup>。当样品显示介质内部的散射各向异性时如前散射,则需要更复杂的用于介质内辐射传输的建模方法。近来使用的一个工具是用于光谱预测 Monte Carlo 仿真,它为散射过程通过概率函数获得大量光粒子的统计平均。这种方法经常用于生物医学领域用于研究组织被放射后的光子分布。

大多数光谱软件需要时可以将光谱进行 K-M 转变,对于散射系数恒定的情况,至少在某些光谱范围内,转变后的光谱类似于透射方法测得的光谱。以 K-M 为单位的光谱强度在 0.2~0.7 的相对误差对反射来说是最小的,这类似于从透射光谱转换成吸收光谱及其误差估计, Krivácsy 等<sup>[14]</sup>进行过反射参比材料的变化及其对样品的 K-M 单位的影响的研究。

## 实验方面

粉末样品漫反射光谱的测定较其他固体样品透射测定技术很少需要对样品进行预处理,透射分析时往往需要将样品与透明介质混合。中红外测量时,在实验室中通常使用 KBr 压片技术,它需要高压以制成透明薄片。该方法的

局限性是有时候那些惰性的介质材料会产生一些意想不到的相互作用。压片中还可能会存在散射,它是导致基线偏移的证据。近红外区分子振动的合频与倍频吸收与对应的中红外区相比很弱,中红外区的那些吸收带是对应于特定的官能团振动。这就使得在近红外测量时需要使用比红外 KBr 压片更多的样品以获得更大的吸收。

图 2 是无水葡萄糖的比较光谱。上面一条是透射光谱,在其测量过程中,样品被置于光谱仪的检测器前用以降低由于压片内部不均匀而带来的散射衰减效应,因为通常样品仓得到的光谱的信噪比往往不令人满意。下面一条光谱是粉末样品的漫反射光谱,其样品被置于一个样品杯,样品准备只需稍微将样品用小匙压平。这也显示了样品制备相当容易。两张光谱只有在低分辨率处有些细微不同。

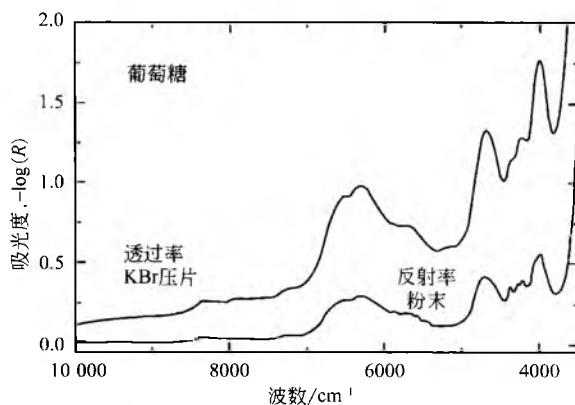


图 2 晶状无水葡萄糖近红外光谱的比较。应用 KBr 成片技术,光谱就透射率进行了测量 [光谱分辨率为  $64\text{cm}^{-1}$ ; 吸光度(上面的谱线)和分辨率为  $32\text{cm}^{-1}$  漫反射光谱的强度数据(下面的谱线)强度数据均转变为一  $-\log(R)$ ]

我们知道,中红外的信息密度很大。与之比较,近红外光谱对不同单糖的判别能力示于图 3(a)漫反射光谱,图 3(b)是两个药物原料的近红外光谱。图 4 是样品颗粒对光谱的影响,通过将原始晶体样品研磨后得到的光谱与来研磨的样品光谱比较。对于粗颗粒,由于散射效应减小,光谱强度变大,也就是光能可以穿透更深。另外,我们还可以观察到一个几乎恒定的衰减,它导致了一  $-\log(R)$  的向上偏移。然而,经 K-M 变换后的光谱会由于基线的漂移而产生更复杂的变形,见 Griffiths<sup>[7]</sup>的论述。

未稀释的样品光谱会由于中红外区的强吸收而受到 Fresnel 反射效应的影响,而且,强弱吸收带间的差别会大为减小。图 5 是一个例子,是咖啡因 KBr 压片和纯咖啡因样品的漫反射光谱的对比。使用两种表达形式,分别是 K-M 变换和一  $-\log(R)$ 。后一种显示采用漫反射技术,可以极大地放大弱吸收带。强度分布比例与将咖啡因样品用 KBr 稀释 100 倍后的透射光谱相近。图 6 中所示的在中红外指纹区的靠近的图谱给我们提供了为什么使用 KBr 介质稀释后的粉末样品改用漫反射技术的理由,它可以与透射光谱相媲美。

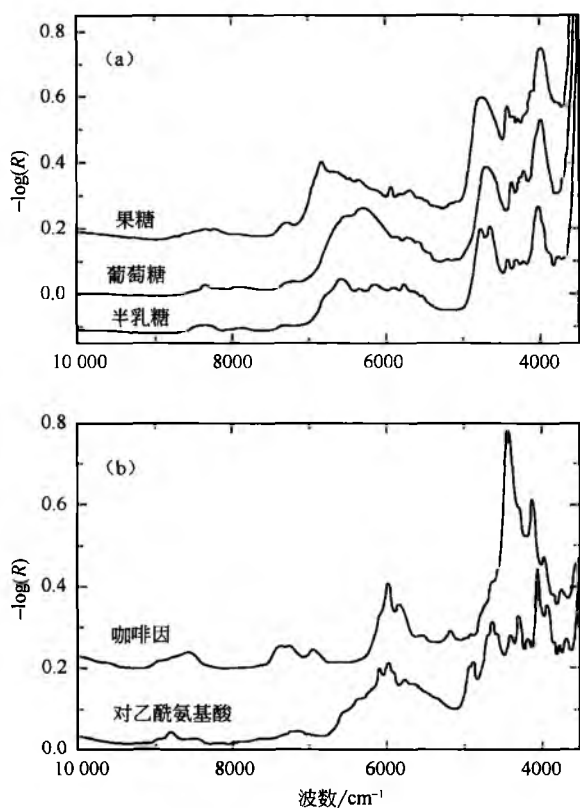


图3 几种药物的近红外漫反射光谱：(a) 三种结晶性粉末单糖的光谱比较（为了清晰，将果糖和半乳糖的图谱偏移，分辨率 $32\text{cm}^{-1}$ ）；(b) 咖啡因和对乙酰氨基酚的图谱比较（层偏移，分辨率 $32\text{cm}^{-1}$ ）

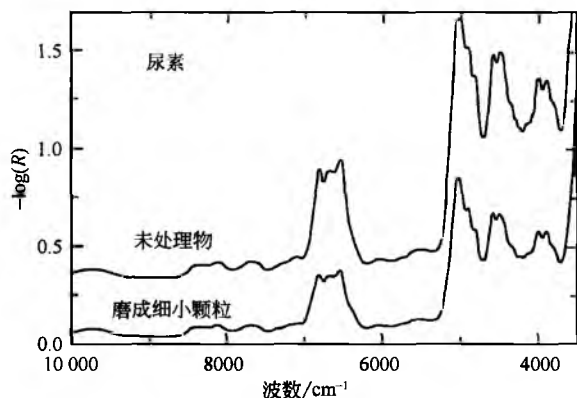


图4 阐述粒径影响的晶状尿素的漫反射光谱（上面的谱线来自供应商提供的未经处理的晶状物，而下面的谱线属于已磨成微小颗粒的物质）

对于强吸收带，漫反射光谱中的 Fresnel 效应影响也很大，会导致严重的谱带变形，使用 K-M 理论也无法建模。未稀释的原料样品，如纯咖啡因，显示出严重谱带漂移和变形，导致在将其与光谱库中标准光谱比较时存在很大困难，因为吸光度数据建立的光谱库中的光谱是由标准透射

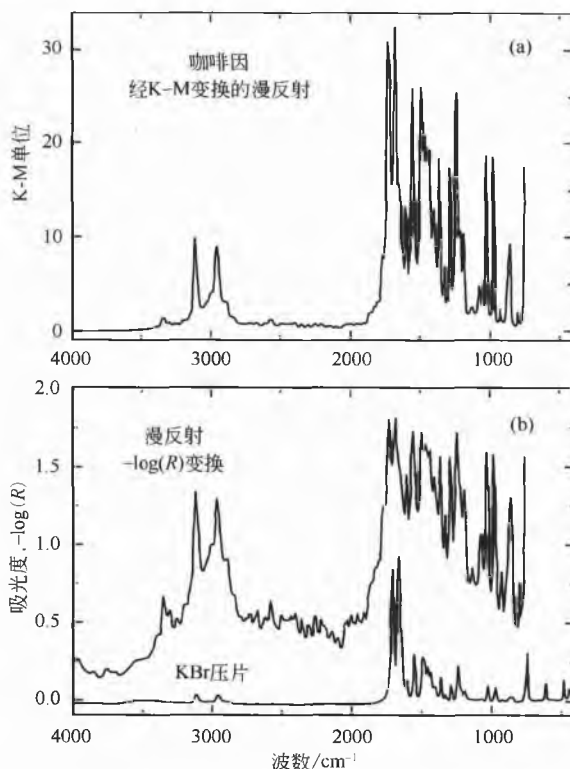


图5 经漫反射和透射光谱获得的咖啡因的中红外光谱的比较。(a) 以 K-M 单位变换强度数据得到的纯粉末物质的漫反射光谱；(b) 同一漫反射光谱，但采用  $-\log(R)$  变换（上面的谱线），由于所用 MCT 检测器的中断限制了较低的光谱区域；下面的谱线是采用传统的 KBr 压片技术而产生的透射光谱，转变成吸光度，即  $-\log(\text{透射率})$

法或衰减全反射法获得。吸收指数  $k$  与吸收系数间的关系是  $a = \ln(10)(4\pi/\lambda)k$ ，其中  $\lambda$  是入射光波长，对于高的  $k$ ，Fresnel 反射会达到 1，这种情况下，谱带也称为剩余射线带 (reststrahlen band)。这方面也有应用，例如窄光学反射带通滤波片。

UV/VIS 区域存在基础电子吸收，也存在类似的强吸收。随颗粒尺寸的增加，镜面反射的比例增加，这在漫反射光谱中更为明显，Wendlandt 和 Hecht 讨论了 UV/VIS 的上述工作。

过去，对于有关漫反射技术的局限性进行过广泛深入的研究。研究证明，除了光学常数外，样品的性质如颗粒尺寸和包装也影响漫反射光谱<sup>[9,15]</sup>。对于漫反射和镜反射的特征，通过不同尺寸颗粒的样品与无吸收的惰性基质的稀释进行过研究。结果发现，即使在 KCl 稀释的样品中，漫反射光谱测定时同时存在镜反射和漫反射，而且，镜反射成分肯定与样品有关镜反射与前表面镜反射并不一定一致<sup>[16]</sup>。为了证明这一点，用纯 KCl 粉末放在样品上面以阻止前表面反射。Brimmer 等<sup>[17]</sup>进行了另一个值得注意的研究，同时也讨论了使用不同几何光学附件 Fresnel 反射对漫反射光谱的影响。

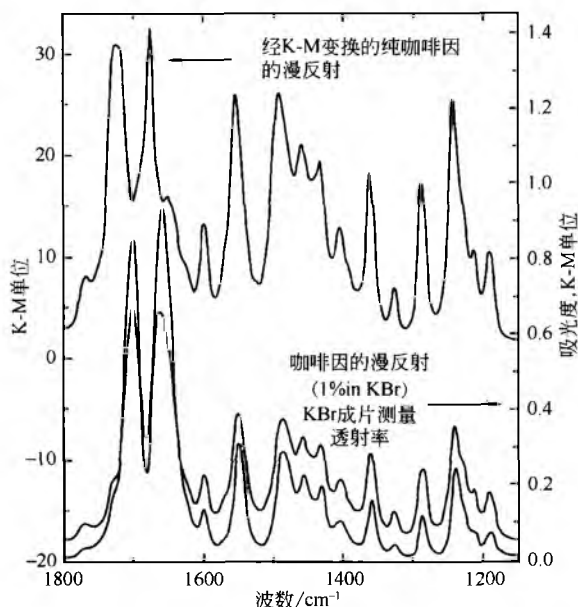


图6 在不同条件下得到的咖啡因中红外光谱的区别。纯晶状粉末(最上面谱线)的漫反射光谱,在KBr粉末中含有1%的咖啡因的漫反射光谱(中间的谱线,K-M单位两光谱的强度),应用KBr压片技术记录的吸光度光谱(下面的谱线)

探测IR辐射的穿透深度可通过样品的散射和吸收两种特性进行测定。Fraser等<sup>[18]</sup>进行过理论计算,结果显示,对于强和中吸收,无穷厚的样品为1mm,对于弱的吸收,则声称是5mm。对于纯的KCl,一定得粒度,加一定压力分散的样品。2mm厚度即可达到K-M方程所要求的“无穷厚”。更厚的厚度对测量反射也没有什么变化<sup>[14]</sup>。刚刚提及的装填密度也是一个影响光谱的因素。光谱学家<sup>[19]</sup>对此也进行了研究。

许多其他的物质也用于漫反射光谱作为基质的研究,除了已提及的碱金属卤化物,还有其他物质如卤化银、钻石、锗、硅和硫属化物玻璃,小粒径更好。更多关于不同基质的深入调研见文献<sup>[20]</sup>。

Kirvácsy等<sup>[21]</sup>开展了影响漫反射定量的精确度和准确度的研究,并与透射测量相比较。除了能重复的样品制备,用了一个低估的反射值( $R_\infty$ ,  $r < 1$ ),在K-M转换的定量评估光谱是导致校正曲线的截距为负值和略微降低的线性回归系数。另一个先决条件是散射保持稳定,通过把样品放在无吸收基质上展平,如用很细的KBr粉末。

对K-M方程的线性在几个不同条件下也作了考察,如咖啡因,在KCl粉末中稀释达到质量的100%,从弱到强的吸收带用来考查重要的分析参数。结果表明这种条件下使用有偏离轴心的几何光学附件和试样前后的交叉极化,可降低表面的Fresnel反射。结果表明与吸收度浓度相关的线性范围扩大了<sup>[22]</sup>。近红外光谱基于一 $\log(R)$ 测量漫反射的线性方程在上已述及。Olinger等<sup>[23]</sup>也对吸收基质的影响作了较深的研究,声称浓度范围取决于颗粒大小和基质吸收强度,非线性影响在中红外光谱中甚至更大<sup>[24]</sup>。这一结

果必须在对原位分析如薄层层析板上的物质的吸收时加以考虑。以下有更大篇幅讲述光谱与分离技术联用。

对粉末和大批原料的漫反射光谱的解释,Chaffin等<sup>[25]</sup>进行了很有意义的研究。他们把近红外光谱区延伸从10 000~2500 $\text{cm}^{-1}$ 吸收,吸收饱和以及不同量的样品对Fresnel反射的影响也有阐述。降低研究物质内部的散射,如应用类似于基质折光系数的液体,吸收可大为增强,正如K-M理论所预见。

因为漫反射光谱是建立于散射之上的,均匀度颗粒尺寸的信息也可获得,这在粉末工程学中是一个相当重要的参数。Ilary介绍了采用多元校正技术和近红外光谱联用<sup>[26]</sup>,还包括了多重散射校正对光谱进行标准化处理(见后)。

很困难的固体样品的定性分析可采用硅碳研磨纸的非常规方法。样品在粗糙的研磨纸表面摩擦,少量样品黏在纸表面上,用黏了样品的纸表面和干净的纸表面对比,用漫反射附件收集它们的漫反射光谱。近来,与未涂布的研磨纸表面相比使用金属涂布纸更好,因为信噪比可因反射强度提高而提高(推荐使用粗砂400号)。对特别坚硬的物质,钻石在金属下的样品装置用得很成功<sup>[27]</sup>。

对于定性和定量中红外研究,散射的样品稀释,推荐使用透明基质。漫反射技术可用于低浓度,因为弱吸收的加强效应在透射中不存在。另一方面,用KBr粉稀释样品,会使样品不纯,研磨时也存在KBr本身在湿性空气中受湿度的影响,这会带来水吸收带的增加。因此当用此类物质时应特别注意,须放置在干燥器中保持干燥或重新烘干。图7显示用KBr粉末得到的一个样品的漫反射光谱,参考光谱是用金箔涂布的反射基质,图中显示基线偏移,KBr粉末的反射比金涂布的基质低。无论杂质是KBr原有的还是污染空气的存在所产生的强吸收带,都迫使漫反射技术需要改善。在这篇文章中<sup>[28]</sup>,超纯的KBr和很干净的工作台是提高分析范围的先决条件。

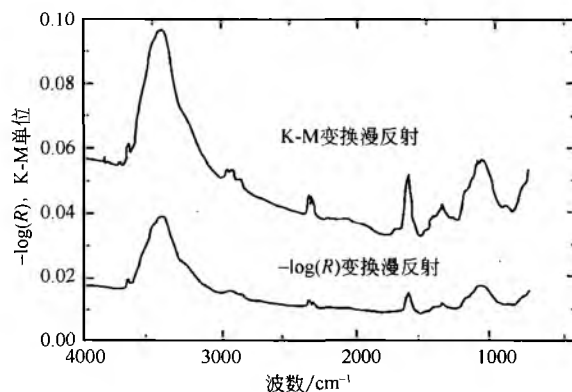


图7 在涂金漫反射物质测得的KBr粉末漫反射光谱,转换成一 $\log(R)$ 或K-M单位。KBr粉末的光谱反射度低于涂金标准的反射度。各个吸收带是:约3500 $\text{cm}^{-1}$ 及1640 $\text{cm}^{-1}$ 处的宽吸收带为水的吸收;2350 $\text{cm}^{-1}$ 处的双带是光谱仪及附件中未能补偿的 $\text{CO}_2$ 吸收;1500~1000 $\text{cm}^{-1}$ 之间的谱带系无机杂质所致,3000 $\text{cm}^{-1}$ 以下的吸收带为含烃基化合物

漫反射也广泛应用于痕量分析。这种情况下,样品用可挥发的溶剂溶解后转移至 KBr 粉末上,最好用微量杯,溶剂挥发后,样品就涂在 KBr 粉末上,用微取样技术比 100 ng 少的负载样品也能给出满意的图谱。如果避免杂质的污染有严格的控制,检测限能到纳克级。文献中有例子鉴别不同的药物<sup>[28]</sup>和氯化二苯二噁英<sup>[29]</sup>异构体。

当分离技术如薄层色谱(TLC)、液相色谱和红外光谱联用时,可用于组成物的鉴别,而用于定量不是很成功,通常使用漫反射技术。分析物从混合物中分离出来后,检测限能达到很小,如 TLC 底层或 LC-IR 联用流出物。溶解的化合物通常转到透明的粉末上,待溶剂消失后就能检测<sup>[28]</sup>。TLC 板上原位检测也被该小组和其他研究组采用<sup>[30]</sup>。可是由于固定相又强又宽的吸收,如纤维素、三氧化二铝、硅胶以及其他物质,被分析物的检测限相对于透明基质大为恶化。另外底层和分离的组成物相互作用也常常带来很大的光谱变化,在一定程度上导致很难在谱库中搜索到,因为谱库中的是最常规的固定相图谱为参考。液相色谱中极性流出物如反相液相色谱,溶剂的消除步骤很难,尽管也设计了接口使反相液相色谱的流出物在线分析<sup>[31]</sup>。Somser 等<sup>[32]</sup>作了基于分析物沉积概念的综述。HPLC-FT/IR 的互动进入药物研究计划和自动控制, Piironla 和 Kirkland 对此也已展开了讨论<sup>[33]</sup>。

## 化学计量学

质量控制、药物产品鉴别检查和鉴定在有广泛应用的不同光谱学方法中是重要的领域,在许多光谱学方面如关于样品制备,不同附加物的影响和可能存在的光谱仪影响,这些一定程度上左右着定量的质量。最后一个问题可通过不同类型光谱仪校正转换解决,如一个扫描的和 FT 近红外光谱仪<sup>[34]</sup>。

对于光谱的定性解释鉴别化合物的传统常规方法是基于光谱映射计算法则的谱库搜索。在搜索谱库之前,必须进行样品光谱的前处理如消除基线和噪声影响、标准化等。比较这样一个经过处理的光谱和一个待选的谱库中的光谱可源于不同原则,如光谱的相关性、相似度和距离测定以及逻辑操作。一篇这方面的综述详见文献<sup>[35]</sup>。对中红外光谱有许多谱库可供使用,而漫反射技术记录的光谱较少收录。另一方面工业上所用化合物正朝近红外谱库发展,特别是用漫反射光谱技术记录。对于 UV/VIS 范围,只有有限的数字化信息可提供。大多数光谱是从溶液中得来。另一种较难的情况是混合物中组成的鉴别。这方面的讨论和应对策略等详见文献<sup>[36]</sup>。分类和解释光谱的过程可建立在化学计量学上。如因子分析、模式识别、聚类分析、人工智能运算<sup>[37]</sup>。光谱的偏离有时追溯到化学纯度的不同,如水分含量、颗粒大小和粒径分布或多晶体<sup>[38]</sup>。近年来模式识别方法已在近红外检测多晶体和它们的转换起作用。当应用于不同光谱仪时,方法必须相当稳定以避免多次仪器校正<sup>[39]</sup>。

量化是另一个重要领域,需要为过程分析和质量控制给出快速结果判断。多元技术在量化分析中起重要作用。不同的规则和算法用来建立校正模型。独立的波长和全谱方法都有被采用,多元线性回归(MLR)是第一种范畴的例子,而最小二乘法(PLS)和主成分回归(PCR)经常用于宽的光谱解释信息,详见文献<sup>[40, 41]</sup>。除了所谓的全谱方法,光谱的选择也是化学计量学提高和建立更稳定校正模型的舞台。最近一篇综述提供了这一领域的研究<sup>[42]</sup>。

值得一提的是建立在漫反射光谱上的量化需要可重复的样品制备,因为反射是建立于粒子大小、形状、装填密度和样品表面纹理。因此样品制备必须控制好,当用球和研钵研磨时,研磨时间和压入样品都尽可能一致。Blanco 提供了一个最近的例子,他们用药物混合物中活性成分测试了建于最小二乘法的多元校正模型和不同的光谱预操作方法<sup>[43]</sup>。经常可通过原始光谱经过一阶或二阶导数消除基线效应,特别是多元散射校正是对漫反射光谱的标准化处理的一个重要预处理方法<sup>[44]</sup>。

## 药物方面应用

近年来,漫反射光谱在药学分析领域中应用与日俱增,1986 年前这方面工作的综述可在药学技术大全的第一版中找到<sup>[45]</sup>。因为 GMP 的要求,药物原材料采用近红外技术进行在线鉴别也收录其中。另一方面中红外光谱提供了更多关于在这个谱区内振动谱带包含全部的分子亚结构信息,而近红外谱带更多的是合频和倍频吸收,只涉及 C—H、O—H、N—H 分子键振动。在一个特定分子式和活性组分需要量化时,中红外较近红外有更大优势<sup>[46]</sup>。其他应用是关于对于整粒药片和胶囊体快速可靠无损检测的发展应用。Ladder 等描述了通过胶囊分析几种无机物。他们目的是要用聚类算法以近红外反射分析检测出胶囊干扰的影响<sup>[47]</sup>。另外,包括片剂不经过粉碎或提取的活性成分的直接控制,也可采用近红外光谱成为可能,如其他科学家所述<sup>[48]</sup>。

近红外光谱是推荐作为可替代方法的几部药典测试。例如氨苄西林三水化物很好地说明这一点。它有 8 个质量指标可于验证计算出“一致性指数”<sup>[38]</sup>,另外化学计量学质量控制也通过同一研究组得到了发展<sup>[49]</sup>,他们的这种算法用来区分相同粒度的不同乳糖样品以及研究均匀混合过程中的混合有效性。

另一项需经常做的工作是水分测定,硬胶囊水分的量化由 Bernstson 描述,他讨论了水分在线监控的重要性<sup>[50]</sup>,用三个优化的近红外波段建立了稀疏 MLR 校正模型,在水分 5.0%~18% 范围内产生的预测绝对误差为 0.1%。为控制生产过程, Han 等<sup>[51]</sup>分析了 1100~2500nm 数据范围,二阶导数光谱用来水分的 PLS 校正,单一波长分析用来测定涂布厚度。更进一步,气泡眼包装的药片鉴别也成为可能。

Blanco 等应用了一种光纤探头<sup>[52]</sup>分析了以奥替溴胺为活性成分,纤维素、玉米粉、乙醇酸钠和棕榈酸甘油酯为

辅料的抗痉挛药样品。这个小组研究覆盖了这些物质的鉴别和活性成分的量化,其中包括与有着 163 个药物近红外谱库作比较的谱库搜索<sup>[53]</sup>。药物生产过程中在线监测多晶型转变的终点控制,最近也有所描述<sup>[54]</sup>。进一步的该领域的研究已出版在前面已经提及<sup>[39]</sup>。

另一个有意思的应用是采用光纤探头直接通过泡罩包装非破坏性地鉴别药片<sup>[55]</sup>。三种不同模式识别方法建立于全谱近红外光谱,部分波段用于测试区分薄膜衣药片和非薄膜衣药片,以及活性药片和安慰药片。Dreassi 等<sup>[56]</sup>使用近红外 FT 光谱作为固体药物处方的质量控制。固体药物制备的量化分析也发展迅速,如含布洛芬的药丸和扑热息痛的药片以及含有盐酸苄达明和 tricetol 的粉剂。另一个值得关注的是几种药物物理特性如结晶形式和密度等的研究<sup>[58]</sup>。

总之,光谱技术将更深入地占据将来的定性和定量分析工作。这是由于这些技术发展速度快和图谱中包含有多种丰富的信息,特别是红外。不需试剂的多组分方法现在也成为可能。广泛应用的漫反射技术在实验室和生产中与其他分析技术相媲美,但是对于大批和分散系统的研究它常常是被选择的方法。另外更精密的仪器和友好的界面使它有更多的发展。在其中,化学计量学起着很重要的作用,文献中提及的复杂算法有希望由不久将来的专家系统提供,让上述提及的光谱方法得到更特殊应用和更广泛的接受。

### 参考文献

- Bugay, D. E.; Williams, A. C.; Brittain, H. G., Eds.; *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
- Coates, J. *Vibrational Spectroscopy: Instrumentation for Infrared and Raman Spectroscopy*. *Appl. Spectrosc. Rev.* 1998, 33, 267—425.
- Workman, J. Jr.; Springsteen, A. *Applied Spectroscopy—A Compact Reference for Practitioners*; Academic Press: San Diego, 1998.
- Heise, H. M. *Clinical Applications of Mid- and Near- Infrared Spectroscopy*. *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*; Gremlich, H.-U., Yan, B., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 259—322.
- Yang, P. W.; Mantsch, H. H.; Baudais, F. A Critical Evaluation of Three Types of Diffuse Reflectance Infrared Accessories. *Appl. Spectrosc.* 1986, 40, 974—978.
- Springsteen, A. Standards for Reflectance Measurements. *Applied Spectroscopy—A Compact Reference for Practitioners*; Workman, J., Jr., Springsteen, A., Eds.; Academic Press: San Diego, 1998; 247—267.
- Griffiths, P. R. Letter; Practical Consequences of Math Pre-Treatment of Near Infrared Reflectance Data; Log  $(1/R)$  vs  $F(R)$ . *J. Near Infrared Spectrosc.* 1995, 3, 60—62.
- Kubelka, P.; Munk, F. Ein Beitrag Zur Optik Der Farbanstriche. *Z. Techn. Phys.* 1931, 12, 593—601.
- Kortüm, G. *Reflectance Spectroscopy*; Springer-Verlag: New York, 1969.
- Loyolka, S. K.; Riggs, C. A. Inverse Problem in Diffuse Reflectance Spectroscopy; Accuracy of the Kubelka-Munk Equations. *Appl. Spectrosc.* 1995, 49, 1107—1110.
- van Gemert, M. J. C.; Star, W. M. Relations Between the Kubelka-Munk and the Transport Equation Models for Anisotropic Scattering. *Lasers Life Sci.* 1987, 1, 287—298.
- Burger, T.; Fricke, J.; Kuhn, J. NIR Radiative Transfer Investigations to Characterise Pharmaceutical Powders and Their Mixtures. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1998, 6, 33—40.
- Hecht, H. G. A Comparison of the Kubelka-Munk, Rozenberg, and Pitts-Giovanelli Methods of Analysis of Diffuse Reflectance for Several Model Systems. *Appl. Spectrosc.* 1983, 37, 348—354.
- Krivácsy, Z.; Hlavay, J. Effect of Sample Packing on the Scattering Properties of the Reference Material in Diffuse Reflectance Infrared Spectrometry. *Talanta* 1994, 41, 1143—1149.
- Wendlandt, W.; Hecht, H. G. *Reflectance Spectroscopy*; Interscience Publishers: New York, 1966.
- Yang, P. W.; Mantsch, H. H. Diffuse Reflectance Infrared Spectrometry; Characteristics of the Diffuse and Specular Components. *Appl. Optics* 1987, 26, 326—330.
- Brimmer, P. J.; Griffiths, P. R.; Harrick, N. J. Angular Dependence of Diffuse Reflectance Infrared Spectra. I. FT-IR Spectrogoniophotometer. *Appl. Spectrosc.* 1986, 40, 258—265.
- Fraser, D. J. J.; Griffiths, P. R. Effect of Scattering Coefficient on Diffuse Reflectance Infrared Spectra. *Appl. Spectrosc.* 1990, 44, 193—199.
- Yeboah, S. A.; Wang, S. H.; Griffiths, P. R. Effect of Pressure in DRIFT Spectra of Compressed Powders. *Appl. Spectrosc.* 1984, 38, 259—264.
- TeVrucht, M. L. E.; Griffiths, P. R. Quantitative Investigation of Matrices for Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectrometry. *Talanta* 1991, 38, 839—849.
- Krivácsy, Z.; Hlavay, J. Method for the Reliable Quantitative Analysis by Diffuse Reflectance Infrared Spectroscopy. *J. Mol. Struct.* 1995, 349, 289—292.
- Brimmer, P. J.; Griffiths, P. R. Angular Dependence of Diffuse Reflectance Infrared Spectra. III. Linearity of Kubelka-Munk Plots. *Appl. Spectrosc.* 1988, 42, 242—247.



23. Olinger, J. M.; Griffiths, P. R. Quantitative Effects of an Absorbing Matrix on Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. *Anal. Chem.* 1988, 60, 2427–2435.
24. Brimmer, P. J.; Griffiths, P. R. Effect of Absorbing Matrices on Diffuse Reflectance Infrared Spectra. *Anal. Chem.* 1986, 58, 2179–2184.
25. Chaffin, N. C.; Griffiths, P. R. Role of Scattering Coefficients in Extended Near-Infrared Diffuse Reflection Spectrometry. *Appl. Spectrosc.* 1998, 52, 218–221.
26. Ilari, J. L.; Martens, H.; Isaksson, T. Determination of Particle Size in Powders by Scatter Correction in Diffuse Near-Infrared Reflectance. *Appl. Spectrosc.* 1988, 42, 722–728.
27. Hoult, R. A.; Spragg, R. A. Abrasive Sampling for Diffuse Reflectance Using Reflective Substrates, Itoh, K., Tasumi, M., Eds.; *Fourier Transform Spectroscopy, 12th International Conference*, Waseda University Press: Tokyo, 1999; 506–507.
28. Otto, A.; Bode, U.; Heise, H. M. Experiences with Infrared Microsampling for Thin-Layer and High-Performance Liquid Chromatography. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 1988, 331, 376–382.
29. Gurka, D. F.; Billets, S.; Brasch, J. W.; Riggle, C. J. Tetrachlorodibenzodioxin Isomer Differentiation by Micro Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectrometry At the Low Nanogram Level. *Anal. Chem.* 1985, 57, 1975–1979.
30. Glauning, G.; Kovar, K.-A.; Hoffmann, V. Possibilities and Limits of an On-Line Coupling of Thin-Layer Chromatography and FTIR-Spectroscopy. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1990, 338, 710–716.
31. Castles, M. A.; Azarraga, L. V.; Carreira, L. A. Continuous On-Line Interface for Reversed-Phase Microbore High Performance Liquid Chromatography/Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Analysis. *Appl. Spectrosc.* 1986, 40, 673–680.
32. Somsen, G. W.; Gooijer, C.; Brinkman, U. A. Th. Analyte-Deposition-Based Detection in Column Liquid Chromatography: Concept and Examples. *Trends Anal. Chem.* 1998, 17, 129–140.
33. Pivonka, D. E.; Kirkland, K. M. Research Strategy for the HPLC/FT-IR Analysis of Drug Metabolites. *Appl. Spectrosc.* 1997, 51, 866–873.
34. Lin, J.; Lo, S.-C.; Brown, C. W. Calibration Transfer from a Scanning Near-IR Spectrophotometer to a FT-near-IR Spectrophotometer. *Anal. Chim. Acta* 1997, 349, 263–269.
35. Luinge, H. J. Automated Interpretation of Vibrational Spectra. *Vibr. Spectrosc.* 1990, 1, 3–18.
36. Chen, C.-S.; Li, Y.; Brown, C. W. Searching a Mid-Infrared Spectral Library of Solids and Liquids with Spectra of Mixtures. *Vibr. Spectrosc.* 1997, 8, 9–17.
37. Luinge, H. J. Multivariate Methods for Automated Spectrum Interpretation. *Computing Applications in Molecular Spectroscopy*; George, W. O., Steele, D., Eds.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1995; 87–103.
38. Plugge, C.; van der Vlies, C. The Use of Near Infrared Spectroscopy in the Quality Control Laboratory of the Pharmaceutical Industry. *J. Pharm. Biom. Anal.* 1992, 10, 797–803.
39. Aldridge, P. K.; Evans, C. L.; Ward, H. W., II; Colgan, S. T.; Boyer, T.; Gemperline, P. J. Near-Infrared Detection of Polymorphism and Process-Related Substances. *Anal. Chem.* 1996, 68, 997–1002.
40. Martens, H.; Naes, T. *Multivariate Calibration*; John Wiley: Chichester, 1989.
41. Marbach, R.; Heise, H. M. On the Efficiency of Algorithms for Multivariate Linear Calibration Used in Analytical Spectroscopy. *Trends Anal. Chem.* 1992, 11, 270–275.
42. Norgaard, L.; Saudland, A.; Wagner, J.; Nielsen, J. P.; Munck, L.; Engelsen, S. B. Interval Partial Least-Squares Regression (IPLS): A Comparative Chemometric Study with an Example from Near-Infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 2000, 54, 413–419.
43. Blanco, M.; Coello, J.; Iturriaga, H.; MasPOCH, S.; de la Pezuela, C. Effect of Data Preprocessing Methods in Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy for the Determination of the Active Compounds in a Pharmaceutical Preparation. *Appl. Spectrosc.* 1997, 51, 240–246.
44. Isaksson, T.; Naes, T. The Effect of Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Linearity Improvement in NIR Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 1988, 42, 1273–1284.
45. Bornstein, M. Diffuse Reflectance Spectroscopy. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Vol. 4, Marcel Dekker, Inc.; New York, 1991; 23–35.
46. Ryan, J. A.; Compton, S. V.; Brooks, M. A.; Compton, D. A. C. Rapid Verification of Identity and Content of Drug Formulations Using Mid-Infrared Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1991, 9, 303–310.
47. Lodder, R. A.; Selby, M.; Hieftje, G. M. Detection of Capsule Tampering by Near-Infrared Reflectance Analysis. *Anal. Chem.* 1987, 59, 1921–1930.
48. Jensen, R.; Peuchant, E.; Castagne, I.; Boirac, A. M.; Roux, G. One-Step Quantification of Active Ingredient in Pharmaceutical Tablets Using Near-Infrared Spectroscopy.

- copy. *Spectrosc. Int. J.* 1988, 6, 63—72.
49. Plugge, W.; van der Vlies, C. Near Infrared Spectroscopy as a Tool to Improve Quality. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14, 891—898.
50. Berntsson, O.; Zackrisson, G.; Oestling, G. Determination of Moisture in Hard Gelatin Capsules Using Near-Infrared Spectroscopy: Applications to At-Line Process Control of Pharmaceuticals. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1997, 15, 895—900.
51. Han, S. M.; Faulkner, P. G. Determination of SB 216469-S during Tablet Production Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14, 1681—1689.
52. Blanco, M.; Coello, J.; Iturriaga, H.; MasPOCH, S.; de la Pezuela, C. Quantitation of the Active Compound and Major Excipients in a Pharmaceutical Formulation by Near Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy with Fiber Optical Probe. *Anal. Chim. Acta* 1996, 333, 147—156.
53. Blanco, M.; Coello, J.; Iturriaga, H.; MasPOCH, S.; de la Pezuela, C.; Russo, E. Control Analysis of a Pharmaceutical Preparation by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. A Comparative Study of a Spinning Module and a Fiber Optic Probe. *Anal. Chim. Acta* 1994, 298, 83—191.
54. Norris, T.; Aldridge, P. K.; Sekulic, S. S. Determination of End-Points for Polymorph Conversions of Crystalline Organic Compounds Using On-Line Near Infrared Spectroscopy. *Analyst* 1997, 122, 549—552.
55. Dempster, M. A.; MacDonald, B. F.; Gemperline, P. J.; Boyer, N. R. A Near Infrared Reflectance Analysis Method for the Non-Invasive Identification of Film-Coated and Nonfilm-Coated, Blister-Packed Tablets. *Anal. Chim. Acta*, 1995, 310, 43—51.
56. Dreassi, E.; Ceramelli, G.; Corti, P.; Massacesi, M.; Perruccio, P. L. Quantitative Fourier Transform Near-Infrared Spectroscopy in the Quality Control of Solid Formulations. *Analyst* 1995, 120, 2361—2365.
57. Dreassi, E.; Ceramelli, G.; Corti, P.; Perruccio, P. L.; Lonardi, S. Application of Near-Infrared Reflectance Spectrometry to the Analytical Control of Pharmaceuticals; Ranitidine Hydrochloride Tablet Production. *Analyst* 1996, 121, 219—222.
58. Dreassi, E.; Ceramelli, G.; Corti, P.; Lonardi, S.; Perruccio, P. L. Near-Infrared Reflectance Spectrometry in the Determination of the Physical State of Primary Materials in Pharmaceutical Production. *Analyst* 1995, 120, 1005—1008.

### 进一步阅读

- Adams, M. J. *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*; Royal Soc. Chem.; Cambridge, 1995.
- Knowles, A.; Burgess, C., Eds.; *Practical Absorption Spectrometry. Techniques in Visible and Ultraviolet Spectrometry*; Chapman & Hall; London, 1984, 3.
- Korte, E.-H.; Röseler, A. *Foundations and Features of Infrared Reflection Techniques. Infrared and Raman Spectroscopy*; Schrader, B. Ed.; Wiley-VCH Weinheim 1995, 572—602.
- Kramer, R. *Chemometric Techniques for Quantitative Analysis*; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1998.
- Mirabella, F. M. *Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy*; John Wiley & Sons; New York, 1998.
- Workman, J. J., Jr. Review of Process and Non-Invasive Near-Infrared and Infrared Spectroscopy; 1993—1999. *Appl. Spectrosc. Rev.* 1999, 34, 1—89.

(唐海霞 译)

# 光谱分析技术：荧光光谱法

Stephen G. Schulman

Jeffrey A. Hughes

University of Florida, Gainesville, Florida, U. S. A.

## 引言

分子内部的发光过程可以根据激发能量的来源进行分类。光致发光 (photoluminescence), 包括荧光和磷光, 其激发是由于光被潜在的发光分子吸收而完成的; 而化学发光 (chemiluminescence), 其激发是在化学反应完成时产生的。药学领域中, 通常采用光发射光谱法进行超灵敏含量测定, 这其中荧光分析法占了绝大部分。尽管磷光和化学发光法使复杂, 但也引起人们的兴趣。因此, 本文对这些现象也将作简要概述。

## 分子能量水平和电子的过程

有机分子吸收光后, 分子内单个电子跃迁至某个更高能级的分子轨道, 由此形成的分子激发态在已被单个电子占据的轨道中就存在两个电子。跃迁电子与其原先轨道中的电子可能是反向旋转 (如在基态时), 也可能是同向旋转。如果两电子为反向旋转, 可以认为分子处于激发单重态 (excited singlet state); 反之, 如果为同向旋转, 则认为被激发分子处于三重态 (triplet state)。对于每个激发单重态而言, 都存在一个三重态, 这是因为后者的静电排斥较弱, 其能量比相应单重态的能量也稍低一些。分子经过激发单重态回到基态而发生电子跃迁所产生的发光现象就叫做荧光 (fluorescence); 经过激发三重态回到基态而发生电子跃迁所产生的发光现象则叫做磷光 (phosphorescence)。

跃迁可能发生在从初始单重态到大量激发单重态以及任一激发单重态中大量振动能级的过程中, 这样就可以在一定的光波长 (能量) 范围内对化合物进行扫描, 而该范围位于电磁波谱的可见光区和近紫外光区。这些电子跃迁就产生了该化合物的电子吸收光谱。上述每个高位电子态的“振动宽 (vibrational breadth)”使分子的吸收光谱显宽带状, 而与原子吸收光谱的线状有所不同。

激发后多余的能量通过被激发分子与溶剂分子之间的碰撞迅速消失。每次碰撞损耗的能量使被激发分子内的振动发生改变, 有时可改变激发分子内的电子, 导致无辐射产生 (即没有光发射)。在振动改变的情况下, 这些变化叫做振动弛豫 (vibrational relaxation); 在无辐射电子跃迁的情况下, 则叫做内转换 (internal conversion)。非共轭分子中具有较大的振动自由度, 上述过程可能使被激发分子回到基态。然而, 对于高度共轭的分子, 特别是芳香族类分子, 振动可能受限, 振动弛豫和内转换可能仅使被激发分

子回到最低激发单重态的最低振级。这种状态的存在时间大约为上述振动和电子态存在时间的 10<sup>6</sup> 倍, 分子可能以发射光 (荧光) 的形式从该状态回到基态, 或者可能经历光化学反应或是改变某一电子的自旋。当发生最后一种情况时, 可以说分子经历了体系间跨越 (intersystem crossing), 从而产生最低三重态。如果光发射产生于分子从三重态返回初始单重态的过程中, 那么这种光就叫做磷光。磷光必然使发光分子的角动量发生改变, 经典认为是禁忌的。磷光较长的衰变时间 (10<sup>-4</sup> ~ 10 s) 可以说明这一点。荧光的衰变时间 (衰变概率的倒数) 一般为 10<sup>-11</sup> ~ 10<sup>-7</sup> s。光发射的这两种形态均可用于分析, 但是荧光可以在更宽更广的条件下产生, 因此其在分析领域中的应用也远远多于磷光。

荧光和磷光无例外地分别起源于最低激发单重态和三重态的最低振级, 终止于基态的任一振级, 所以能够发出荧光和 (或) 磷光的单个化合物只可能观察到一个荧光谱带和磷光谱带。如果超过一个, 则表明可能存在外来发光物质, 也可能存在杂质或光化学反应产物。

## 发光光谱的特点

### 1. 荧光

荧光的特点是存在对应于激发和发射的两种光谱。在溶液中, 两种光谱通常均表现为宽谱带, 这种谱带可能会出现, 也可能不会出现良好的振动微细结构。化合物的激发光谱和吸收光谱应当是一致的, 但是使用普通的荧光分光光度计, 会得到一张与真实吸收光谱变形了的光谱图。变形程度取决于光谱激发源的光输出以及单色器和检测器的对激发光波长响应的关系。激发光谱可以用于混合物的定性定量分析。例如, 如果混合物中各化合物的吸收光谱相差很大, 就可以通过在适当的波长处设置发射单色器, 将混合物中某一组分的激发光谱分离出来。

被测物最大吸收波长处谱带与荧光谱带之间的能量差异叫做 Stokes 频移 (Stokes shift), 通常不大于 100nm。如果荧光谱带中出现不寻常的大范围 Stokes 频移, 则表明溶质在激发态具有某些形式如同分异构 (isomerism) 或质子化解离 (prototropic dissociation) 等光化学行为, 或者存在多个荧光物质。

荧光光谱的形状与用于激发的光波长无关, 这是因为无论分子最初从什么能级被激发, 荧光总是发生于相同能级。

## G

## 荧光的量子产量 (quantum yield) 和衰变时间 (decay-time)

由于在最低激发单重态下存在着与荧光竞争分子去活化的其他进程, 只有一部分被激发分子以荧光形式回到基态。这部分叫做荧光的量子产量 ( $\phi_f$ ) 或者荧光效率。在给定的温度和环境条件下,  $\phi_f$  是被激发分子的一项物理常数。 $\phi_f$  通常随温度升高而降低。分子在发射荧光前处于激发态的实际平均时间是指最低激发单重态的存在时间 (也称为荧光衰变时间), 用符号  $\tau_k$  表示。如果没有其他进程与荧光发生竞争, 那么最低激发单重态的存在时间又称为自然存活时间 ( $\tau_k$ )。荧光的量子产量因此可以用  $\tau^0/\tau_k$  来表达。因为是部分被激发分子 (不会超过总体一), 所以  $\tau_k$  总是大于或等于  $\tau^0$ 。发射光的荧光强度取决于吸收物质 (基态时) 的浓度和摩尔吸收率, 以及荧光物质 (激发态时) 的荧光量子产量。

## 2. 磷光

磷光的特点也是具有激发光谱和发射光谱。由于同一分子最低三重态的能量总是低于最低激发单重态的能量, 产生磷光的波长比产生荧光的波长更长, 因此该波长也大大高于激发光谱的波长。与荧光的情况相同, 磷光光谱和磷光激发光谱会由于实验仪器的部件发生变形, 因此并不代表真实的光谱。

因为最低三重态具有较长的辐射存活时间, 流体溶液中的大多数磷光由于碰撞猝灭而消除, 特别是当溶液中溶解了氧分子。磷光的发生, 通常是在低温 (如液氮) 条件下, 在可能达到高量子产量的刚性体中观察到。在过去的 30 年中, 大多数研究集中于室温磷光 (RTP), 有时可以在吸附于固体基质如滤纸中的试样观察到。不幸的是, 室温磷光的量子产量很低, 导致分析灵敏度很低, 方法无法得到广泛应用。低温磷光测量需要特殊的处理技术, 并且难以重现。因此, 尽管低温磷光光度法是一种本质上非常灵敏的分析方法, 但还是无法引起多数人的注意。然而, 因为某些药物本身不产生荧光 (如甲硝唑), 或者产生的荧光较弱 (如华法林), 而磷光却很强, 所以更倾向于磷光法, 这为作为分子发光光谱法一部分的磷光光度法发挥其价值提供了可能。

## 3. 荧光光谱与化学结构

分析学和药理学感兴趣的荧光光谱来自于取代芳香化合物分子, 特别是那些苯、萘、蒽的衍生物, 或者芳香杂环化合物, 如吡啶、喹啉、异喹啉和吡啶的衍生物等。

一个给定分子所能检测到的荧光强度主要取决于荧光的量子产量, 其对荧光强度大小的影响可能达到 4 个数量级, 也可决定荧光能否被检出。荧光的量子产量取决于与荧光竞争最低激发单重态去活化的其他进程的速度比。而这些则最终取决于分子结构。

含有长脂肪侧链的芳香化合物分子, 其产生的荧光强

度通常低于无侧链的分子。这是由于脂肪部分带入了大量自由振动态所引起的, 后者为内转换提供了充足的途径。在未取代芳香化合物分子中, 芳香环的刚性决定了基态和最低激发单重态之间宽的分隔。一般来说, 分子的刚性和高荧光量子产量是密切相关的。

芳香化合物分子的荧光效率会由于被高相对原子质量取代基如溴和碘, 以及某些取代基如醛、酮和硝基等取代而降低。然而, 大多数情况下, 使荧光强度降低的那些取代基却能够提高磷光强度。因此, 芳香族硝基化合物、溴和碘的衍生物、醛、酮和一些 N 杂环化合物产生的荧光非常弱, 或者根本就不产生荧光。然而, 它们产生的磷光都十分强烈。另一方面, 许多提供电子的取代基, 如氨基、羟基和甲氧基通常能够增强其取代分子的荧光量子产量。

荧光分子基态和最低激发单重态的能量受分子结构特征影响, 如有无取代基和分子的几何结构, 这可以通过荧光光谱中最大谱带的位置 (能量) 反映出来。基态和最低激发单重态之间间隔越大, 荧光的频率越高, 波长越短。这种间隔程度取决于分子最高占据轨道与最低空轨道之间的能量差, 以及对应于基态和最低激发单重态的电子结构之间的排斥能。对于芳香化合物分子, 共轭系统部分越长, 最高占据轨道 ( $\pi$ ) 和最低空轨道 ( $\pi^*$ ) 之间的能量差越小。因此, 荧光波长 ( $\lambda_f$ ) 随苯族 ( $\lambda_f = 262\text{nm}$ )、萘族 ( $\lambda_f = 314\text{nm}$ ) 和蒽族 ( $\lambda_f = 379\text{nm}$ ) 的共轭结构延伸而不断增大。

具有取代基的芳香化合物的荧光特征与其母体化合物不同。 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$  和  $-\text{SH}$  等基团具有未共享电子对, 其能量高于芳香化合物分子的  $\pi$  电子。这些未共享电子对可以转移到芳香环结构空  $\pi$  轨道中, 因此, 取代分子最高占据轨道和最低空轨道之间的能量差大大低于未取代分子 (母体) 最高占据轨道和最低空轨道之间的能量差, 前者的荧光波长也略高于后者。例如, 1-萘胺在正己烷中的荧光波长为  $372\text{nm}$ , 而相同溶剂中, 萘的荧光则位于  $314\text{nm}$  处。

接受电子的基团, 如羧基和腈基, 其取代分子的基态具有局部低能量的空轨道, 这类取代基在未取代分子的最高占据  $\pi$  轨道和最低空  $\pi$  轨道之间引入一条空轨道。因此, 取代分子最高占据轨道和最低空轨道之间的能量差就低于未取代分子最高占据轨道和最低空轨道之间的能量差, 从而使取代分子的荧光波长高于未取代分子。例如, 2-萘酸在正己烷中的荧光位于  $344\text{nm}$  处, 比萘的荧光波长高  $30\text{nm}$ 。

当同一芳香环上同时连接一个接受电子基团和一个供电子基团时, 电子在供电子基团孤对电子轨道和接受电子基团空  $\pi$  轨道间发生跃迁, 此时可能会产生荧光。这种情况下, 跃迁能量较低, 因此, 荧光波长比这两种基团单独连接与芳香环时都要长。当芳香环上连接两个接受电子基团或两个供电子基团时, 荧光谱带的位置通常由具有最高能量孤对电子的提供电子基团, 或者由具有最低能量空轨道的接受电子基团决定。

#### 4. 溶剂的影响

溶剂对荧光光谱的谱带位置和强度起主要作用。某些情况下,溶剂甚至可能决定荧光的产生与否。

溶剂与溶质分子之间的相互作用实际上受静电作用支配,可分为偶极(dipolar)和氢键(hydrogen-bonding)。荧光在一种溶剂中相对于另一种溶剂中的最大荧光谱带位置取决于在每种溶剂中基态和激发态之间的相对间隔,因此,也取决于基态和激发态的溶剂稳定性的相对力度。

如果极性分子的激发态比其基态具有更高的偶极矩(大部分分子属于该类),那么通过与极性溶剂之间的相互作用,激发态比基态更加稳定。结果,随着溶剂极性由低到高,荧光光谱也将位移至更高波长处。少数情况下,溶质分子基态的极性比其激发态更强,此时,溶剂极性越强,基态比激发态越稳定,同时荧光光谱随溶剂极性增强位移至更低波长处。

具有正极化氢原子的氢键溶剂可以认为是质子溶剂,其可与溶质分子的非键合电子对和孤对电子发生作用。具有孤对电子或非键合电子对原子的氢键溶剂称为接受氢键溶剂(hydrogen-bond acceptor solvents),其可与溶质分子中电负性原子中的正极化氢原子发生作用,如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 。由于大多数氢键溶剂也具有极性,所以在分子的溶剂化过程中通常同时存在着氢键和非特定偶极作用。因此,溶剂改变时发生的光谱移位实际上是偶极和氢键的共同影响,这种影响可以是正面的结构性相加,也可以是负面的去结构性相加。

通过在接受电子基团中引入部分正电荷,使质子溶剂与激发态接受电子的官能团(如羧基)发生相互作用,从而促进电荷转移。这样就使激发态相对于基态更加稳定,从而使荧光光谱移至更高波长处,同时常使荧光的量子产量随溶剂提供氢键能力的增强而增加。当溶剂与官能团上的孤对电子发生作用时,这些基团在激发态能够提供电子,比如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ ,通过提高溶剂的质子状态,通常可使荧光光谱移至低波长,同时降低荧光效率。通过与官能团上的氢原子发生溶剂化,这些基团在激发态能够提供电子,比如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ ,接受氢键溶剂可以使光谱移至高波长,并提高荧光效率。这是部分荷正电质子从官能团中撤回的结果,这些官能团使电荷转移变得更加容易。最后,激发态时作为电荷转移接受体的官能团(如羧基)中氢原子发生溶剂化,通过在官能团中遗留一个剩余负电荷,抑制电荷转移。这导致荧光光谱向更高频率移动,荧光的量子产量降低。

对于溶剂对磷光波长的影响,以上同样适用,但波长移位比荧光要小得多。

#### 5. pH 的影响

溶液酸碱度对发光光谱的影响是由酸性官能团的解离作用或者碱性官能团的质子化作用,与荧光、磷光分子中的芳香部分结合而产生的。质子化作用或解离作用能够改

变本质和与发光竞争的非辐射进程的速度比,从而影响发射的量子产量。例如,抗疟药甲氟喹中性水溶液的荧光十分微弱,但磷光却十分强烈。然而,当 $\text{pH} < 1$ 时,其质子形态的荧光却十分强烈,磷光则十分微弱。

质子化作用和解离作用改变了反应分子基态和激发态的相对间隔,从而使发光光谱发生位移。这种位移在荧光光谱中表现得比磷光光谱更加明显,其是由相对于基态,激发态的静电稳定性或者去稳定性所产生的,而这些也归因于质子化作用和解离作用。接受电子基团,如羧基、羰基和嘧啶 N 基,其质子化作用可使发光光谱移至较高波长处;反之,提供电子的基团,如氨基,其质子化作用可使光谱移至较低波长处。提供电子基团,如羟基或者巯基,其原子解离作用可使光谱移至较高波长处;相反,接受电子的基团,如羧基,其解离作用可使发光光谱移至较低波长处。

流态溶液中荧光分子酸碱反应中让人们感兴趣的方面之一是激发态存活时间内质子化作用和解离作用的存在。这一现象影响了荧光对 pH 的依赖性,在进行水溶液荧光分析开发过程中应当予以考虑。

分子在最低激发单重态的存活时间通常为 $10^{-11} \sim 10^{-7} \text{ s}$ ,而质子化反应的速率通常为 $10^{11} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$ 或更低。因此,激发态质子转移反应可能会与激发分子的发射去活化发生竞争。

激发态质子转移与发射去活化之间的竞争是暂时性的,荧光的量子产量对溶液的 pH 仍存在复杂的依赖性。因为分子在激发态时的电子分布通常比基态时的差异大得多,由荧光量子产量的 pH 依赖性引起的荧光强度变化将在一定的 pH 范围内存在,这个范围与依赖于被测物吸收值的 pH 范围有所不同。这意味着,例如芳胺离子,其在最低激发单重态时的酸度较强,即使 $\text{pK}_\text{a}$ 值高达 5,当 $\text{pH} = 0$ 时,也可以通过共轭碱检出荧光。

#### 6. 猝灭

发光分子受光激发产生的光发射,可能由于分子与其他化学物质的相互作用而减弱,甚至消失。这种现象称为发光猝灭(quenching)。

猝灭分为两类。在静态猝灭(static quenching)中,潜在发光分子与猝灭体的络合作用发生在基态,形成的络合体被激发时无法发光。猝灭效率由络合体的络合常数和猝灭体的浓度决定。例如,多柔比星可由三价铁引起荧光猝灭。

在动态猝灭(dynamic quenching)中,猝灭体与发光分子的反应发生在后者的光激发之后,并且存在于激发态存活时间内。动态猝灭也称为扩散猝灭(diffusional quenching),其效率取决于溶液黏度、发光体激发态的存活时间( $\tau^0$ )和猝灭体浓度(Q)。这可用 Stern-Volmer 方程来表述:

$$\Phi_1/\Phi^0 = \frac{1}{1 + k_{\text{QV}}\tau^0[Q]} \quad (1)$$

## G

式中:  $k_Q$  为猝灭体和潜在发光体碰撞的速率常数;  $\Phi_I^0$  和  $\Phi_I$  分别为猝灭体浓度 ( $Q$ ) 为零和非零时的发光量子产量。

动态猝灭的另一个特征是激发态的实际存活时间取决于  $Q$ 。而在静态猝灭中, 激发态的存活时间与  $Q$  无关。

## 7. 浓度的影响

当潜在发光溶质的浓度增加时, 溶质分子间的碰撞频率也相应增加。这通常导致在损耗溶质分子单体的同时形成溶质络合物。很明显, 这种相互作用将影响原本由具有一定单体浓度分子所产生的荧光, 同时也将严重影响荧光分析的结果。

在中等浓度溶液中, 激发态溶质分子间的相互作用通常有两种比较普遍的溶质相互作用。激发多聚体或者激聚体可能会通过激发溶质分子与同类基态分子间的集聚而形成, 可能产生荧光猝灭和(或)光谱红移。两个不同溶质分子间也可能形成激发态络合杂聚物。这种络合物也叫激发络合物(exciplex)。

电子激发能量在分子间的转移是与潜在发光分子浓度相关的另一个现象。能量转移在自然界中普遍存在, 可以通过或者是直接碰撞, 或则距离甚至可高达  $50\text{\AA}$  通过辐射机制, 使激发能量从初始的激发分子(给予体)转移到接受分子(接受体)。激发给予体将其激发能量转移到接受体的效率(不仅是荧光), 与给予体激发态的存活时间、给予体对应于接受体的空间取向以及两者间距离的六次方的倒数(inverse sixth power)有关。能量转移过程使给予体的荧光发生猝灭, 同时常使接受体的荧光变得敏感。

## 8. 温度的影响

在低温状态下, 发光效率通常增加, 光谱形状变得更加尖锐。两种影响都是溶液黏度增加以及由此引起的碰撞去活化减少产生的。当介质温度改变时, 除荧光强度发生变化外, 波长也会发生位移。在极低温度条件下, 荧光可由激发态产生, 而此时的激发态受基态的平衡几何态(equilibrium geometry)和溶剂笼(solvent cage)之中。在室温液态溶液状态下, 荧光仅在其分子几何态和溶剂笼与新的激发态电子分布特征相符后才会发生。流体溶液态条件下发射激发态的能量比刚性条件下更低, 因此, 后者所产生荧光的能量要比前者更高(波长较短)。

## 定量分析

发光光谱法在定量分析中的应用远远多于其他方面的应用。荧光强度  $F$  与被测物浓度  $C$  之间的定量关系来自于 Beer-Lambert 定律:

$$I = I_0 10^{-\epsilon Cl} \quad (2)$$

式中:  $I$  和  $I_0$  分别为样品透射激发光和入射激发光的强度;  $l$  为经过样品的光路长度;  $\epsilon$  为特定激发波长处分子的摩尔吸收系数。被吸收的光强度  $I_a$  即为

$$I_a = I_0 - I = I_0 (1 - 10^{-\epsilon Cl}) \quad (3)$$

如果所有分子吸收光后均产生荧光, 那么  $I_a$  即为荧光强度。然而, 只有一部分  $\Phi_I$  产生荧光, 剩余部分  $1 - \Phi_I$  通过非辐射方式回到基态。因此

$$F = \Phi_I I_a = \Phi_I I_0 (1 - 10^{-\epsilon Cl}) \quad (4)$$

如果样品的吸收度 ( $\epsilon Cl$ )  $< 0.02$ , 在 2% 的误差范围内, 式 (4) 则变为

$$F = 2.3 \Phi_I I_0 \epsilon Cl \quad (5)$$

式中:  $F$  与  $C$  成线性相关。接着只需要将标准溶液的浓度  $C_s$  和其测得的荧光强度  $F_s$ , 与未知样品溶液的浓度  $C_U$  和其荧光强度  $F_U$  根据式 (6) 进行比较:

$$C_U = \frac{F_U}{F_s} C_s \quad (6)$$

应当注意的是, 式 (5) 成立的条件或者是待测溶液浓度极稀, 或者是激发发生在  $\epsilon$  很小的一个吸收光谱范围内。

当然, 对于分析大量的样品时, 在应用表达于式 (6) 简单的相对荧光法之前, 为慎重通常取几种标准溶液绘制标准曲线, 以考察  $F$  与  $C$  之间的线性关系。

在磷光中, 强度  $P$  与被测物浓度相关, 符合与荧光相似几条理由:

$$P = \Phi_{ST} \Phi_P I_0 (1 - 10^{-\epsilon Cl}) \quad (7)$$

式中:  $\Phi_{ST}$  和  $\Phi_P$  分别为体系间跨越的量子产量(部分激发分子从最低激发单重态跃迁到最低三重态)和磷光(达到最低三重态的部分分子以磷光形式去活化)。与荧光相同, 式 (7) 可进行扩展, 对于吸收极弱的溶液, 式 (7) 可进行与式 (6) 相类似的转换:

$$C_U = \frac{P_U}{P_s} C_s \quad (8)$$

式中:  $P_U$  和  $P_s$  分别为未知样品和标准品的磷光强度。因此, 式 (8) 是磷光光度法进行简单定量的基础。

## 仪器

发光光谱仪器的主要组成通常如图 1 所示。样品置于样品池内, 被光源产生的紫外光或可见光激发。滤波器或单色器可以选择某一特定的激发波长范围, 样品向各个方向发出光, 但是只有一部分能被检测系统采集到, 通常设定在与光源呈  $90^\circ$  角处, 这样可以使来自于光源的杂散光最小化。另一个滤波器或单色器可以选择发射波长范围, 检测器将光流量转变为电信号。放大输出系统对该信号进行放大和处理, 并以需要的形式显示出来。

### 1. 光源

辐射能的来源通常可根据辐射的光谱分布进行分类。连续光源(continuum sources)具有宽光谱分布, 覆盖较大的波长范围。而线性光源(line sources)则具有由大量尖锐谱线或谱带组成的光谱。激光使极窄谱带的使用得以实现。

#### 1.1 连续光源

白炽灯是最简单的一种光源, 其通常由处于约 1 个大

气压的惰性气体，如氮气或者氩气中的加热钨杆或钨丝组成。

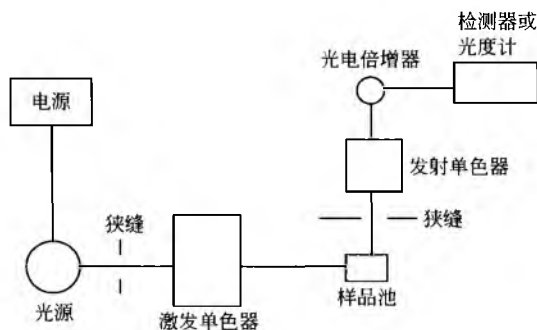


图1 发光光谱仪器的一般设计图

灯发出的光是由灯丝的温度产生的，而后者又取决于灯的输入功率。光的光谱分布与光源温度和波长有关，这种关系可以用 Planck 黑体方程来定义：

$$B = \frac{2hc^2}{\lambda^5} \frac{1}{e^{hc/\lambda T} - 1} \quad (9)$$

式中：\$B\$ 为光谱辐射强度，\$\text{J}/(\text{s} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{nm} \cdot \text{sr})\$；\$h\$ 为 Planck 常量，\$6.6262 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}\$；\$c\$ 为光在真空中的传播速率，\$2.997\,92 \times 10^8 \text{ m/s}\$；\$\lambda\$ 为波长，\$\text{nm}\$；\$K\$ 为 Boltzmann 常量，\$1.380\,66 \times 10^{-23} \text{ J/K}\$；\$T\$ 为热力学温度，\$\text{K}\$。

一只常见的 \$500\text{W}\$ 钨灯在 \$3000\text{K}\$ 温度下工作时可产生 \$0.4\$ 的发射率。如果将光谱辐射强度对波长作图，那么可以看出，光谱辐射强度在 \$1000\text{nm}\$ 波长处达到最大值，在 \$300\text{nm}\$ 和 \$5000\text{nm}\$ 波长处快速下降。所以钨灯在可见和近红外光区最常用。

白炽灯的强度无法满足发光光谱分析的要求，尽管其稳定性是气体放电及弧灯所无法达到的。

放电灯是通过在一对位于气体或者由中性原子和（或）分子组成的金属蒸气中的电极两端施加电压来工作的。如果引入自由电子（通过高压火花），电子加速激发后产生发射光。气体放电灯使用氢气、氮气和惰性气体；金属蒸气放电灯使用易挥发的金属，如汞、镉、锌、镓、铟和铊。

随着电极间隙的两端电压的增加，产生的激发态能量越高，发射光的波长更短。当电压超过了离子化电势时，气体将通过碰撞发生电离，结果质子向阴极加速运动，电子向阳极加速运动，电流增加。在低温和低电流状态下，改变质子化的气体原子或分子似乎是不合适的，因为以离子形式产生的次电子可能撞击阴极，中和质子化的原子或分子。当次电子足够维持放电电流时，就会产生辉光放电（glow discharge）。当电流进一步增加时，放电的截面区域也成比例增加，电压成为常数。为了进一步增加电流，必须增加电压，结果导致光强度增大，同时产生电压差，并变为电弧放电。随后放电也可能向阴极侧的更小区域收缩。

线性发光和连续发光都可能观察到，这与灯内的压力有关。在低电流强度和低温状态下工作的低压灯产生尖锐的原子谱线，本底极低或者没有。随着压力和温度的增加，谱线变宽，连续本底的强度也增加。

高压氙、汞或者汞-氙电弧灯是最常见的激发光源，因为它们具有相对更高的强度、更宽的光谱范围和更低的成本。商业中使用的氙灯可以在宽额定功率范围内工作，通常采用直流电，以得到更出色的稳定性和更长的使用寿命。在 \$300\text{nm}\$ 以下，氙灯的光输出急速下降，以至于激发光谱的长波长峰增大，与吸收光谱的长波长峰产生差异。对应于汞的线性发射光谱（基本谱线位于 \$254\text{nm}\$、\$313\text{nm}\$ 和 \$365\text{nm}\$ 波长处），汞-氙灯发出非常强的光，其强度通常比在同样额定功率工作下的氙灯在任一给定波长处发出的光大得多。然而，这种灯在其他波长处发出的光非常弱，从而限制了激发波长的选择。然而，因为许多物质具有与汞发射谱线交叠的吸收光谱，所以可以使用汞-氙灯进行激发。

当需要高强度和瞬间脉冲的激发光源时，通常使用脉冲放电灯（闪光灯）。在电极间隙间高压电容放电，可以使灯产生瞬间高电流脉冲，从而产生非常强烈的光脉冲。

灯的每闪输入能量由其制造特性决定，与跨越灯的电容和电压有关：

$$Q = CV^2 \quad (10)$$

式中：\$Q\$ 为输入能量，\$\text{J}\$；\$C\$ 为电容，\$\text{F}\$；\$V\$ 为工作电压，\$\text{V}\$。

灯每闪的持续时间约等于灯内电流脉冲的持续时间：

$$t_f = \frac{1}{2} R_a C \quad (11)$$

式中：\$t\_f\$ 为每闪持续时间，\$\text{s}\$；\$R\_a\$ 为有效弧阻，\$\Omega\$。

有效弧阻与电弧隙长度成正比，与工作电压的 \$2/3\$ 次幂成反比。这意味着选择短弧管灯，使其在高压低电容状态下工作，就可以获得最短最强的脉冲。灯的 \$R\_a\$ 值由其制造商提供，有一组条件规格。

$$\text{每闪峰输入功率 (W): } P_i = Q/t_f \quad (12)$$

$$\text{每闪峰输出功率 (W): } P_o = \epsilon P_i \quad (13)$$

式中：\$\epsilon\$ 为转变效率，氙灯通常为 \$0.25 \sim 0.5\$。

$$\text{平均输入电功 (W): } \bar{P}_i = Qf \quad (14)$$

式中：\$f\$ 为重复频率，\$\text{Hz}\$。

制造商通常会推荐最大 \$P\_i\$ 值，高功率型号可能需要强行通风冷却。

$$\text{电源输出的平均电流: } \bar{i} = V_c f \quad (15)$$

\$f\$ 值应不超过 \$t\_f^{-1}\$ 的 \$1/10\$ 左右，从而避免灯内发生连续离子化。

放电电阻 \$R\_c\$ 的选择，是使其额定功率比平均输入电功更高。

$$R_c = \frac{1}{5RC} \quad (16)$$

氙气、氮气和氢气闪光灯都是可行的。填充气体的性质和压力会影响闪光灯的光谱分布。

当氙气闪光管在低于其最大每闪输入功率条件下工作时，电弧可能变窄或呈灯丝状，因为并非所有气体均发生了电离。此时每闪电弧的位置均发生变化，从而引起无序的光输出。通常不推荐在远低于最大输入功率的条件下使用闪光灯。

## 1.2 线性光源

产生线性光谱的辉光放电灯（空心阴极灯）与上述产生连续光谱的放电灯非常相似。加速电子与载气原子发生碰撞产生正离子（图2）。这些离子在电场中获得能量，与阴极碰撞，阴极原子释放出来，通过与电子的非弹性碰撞而激发，受激的金属原子发出光。

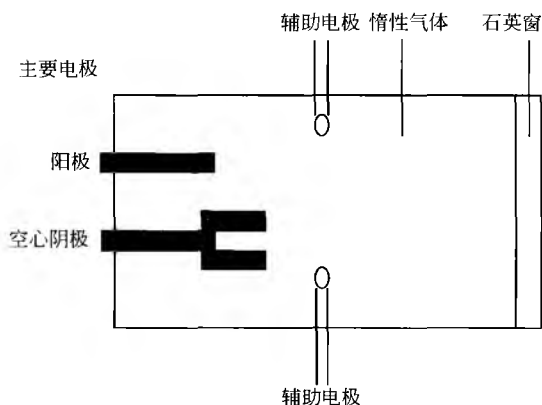


图2 空心阴极灯的示意图

这种灯通常是密封的，可能具有辅助电极以激发原子蒸气。其在直流电下工作，但可调制和脉冲化。如果引入的基础电流  $i_p$  过高，谱线的发出是自身颠倒（self-reversed）的。然而，这可以通过保持低  $i_p$  和  $i_a$  高（辅助电流）加以避免。

无极放电灯简称 EDL（图3），易于制造，但是得到的结果往往无法重现，这是由与灯壁的化学效应、低除气作用和低密封性等原因造成的。一个特斯拉线圈启动器能够产生一些可被高频率电场（通过辐射或者微波获得）加速的自由电子。这些电子需要足够能量来激发和离子化加热产生的原子。实际放电受表面效应（skin effect）限制，表面效应中的膜外表面可使自身颠倒最小化。一般采用低压（0.1~1 Torr）氩气或者氖气；通常不使用氦气，因为会扩散到石英膜之外，且强度也不太稳定。

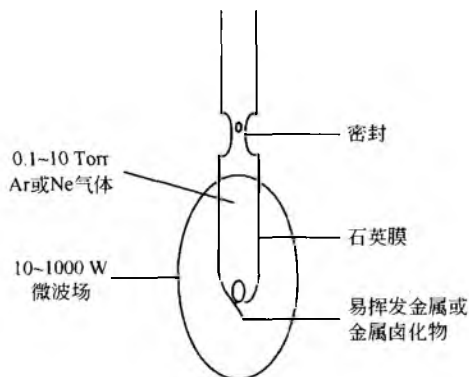


图3 无极放电灯的示意图

(1 Torr =  $1.333\ 22 \times 10^2$  Pa)

这些灯可作为连续光源进行使用，或者进行调制或脉冲化。EDL 在某些情况下稳定性较差，或者寿命较短，但是具有高强度等特点，可产生窄光谱谱线，且相对较便宜。

## 1.3 激光

现代的可调染料激光器具有传统光源所没有的几个优点：①极窄的谱带宽度；②强度高；③出色的校准聚焦技术；④在一定波长范围内连续可调；⑤极短的脉冲持续时间。主要缺点就是价格昂贵、相对复杂以及在 320nm 波长以下难以得到波长可调的激光输出（可使用非线性频率混合技术）。

激光器包括三种基本元件（图4）：①激活介质，用于放大入射电磁波；②能量泵，用于选择性的将能量泵入激活介质，以获得可选择能级，完成粒子数反转；③光学共振器或者共振腔，由两面相对的间隔一定距离的镜子构成，储存部分以共振形式聚集的感应发射。粒子数反转必须在激活介质中完成，偏离 Boltzmann 分布。因此，感应发射速率超过吸收速率，通过激活介质的电磁波增强，而非削弱。光学共振器使激活介质中激发体发出的光发生选择性反馈。一旦超出泵的阈值，反馈将激光放大器转变为振荡器，结果以多种模式发光。

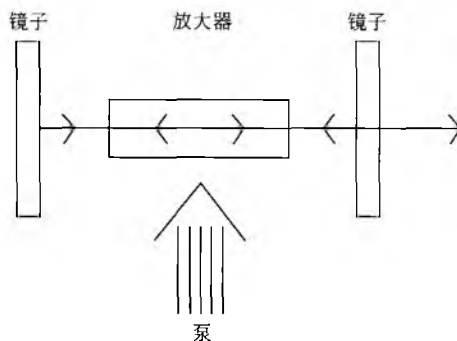


图4 采用两面镜共振腔的传统激光器

激光的工作波长范围取决于激活介质和共振腔获得净增益时的光谱范围。波长选择装置，如将光栅、棱镜和标准量具安装于共振腔内，能够将激光波长限定在所需范围内；对于所有需要波长来说，这在低于激光阈值时可以降低共振腔增益。

可调染料激光器内的激活介质是一种染料溶液。这些染料是具有共轭双键的有机化合物，具有能够产生较大吸收横截面的移位电子。由于能够产生较大的偶极矩，所以自然存活时间很短（ $<10$  ns），荧光量子产量很大。染料激光器的能量泵有闪光灯、氦气激光器、铜蒸气激光器、铍-铈铝石榴石、激态复合物或者氦离子激光器等，在一个宽谱带中振荡，因此得到的脉冲较短。

半导体激光器（激光二极管）是最近出现的发光激发源，具有一些气体、染料激光器和电弧灯等激发源无法比拟的突出优点。与电弧灯相比，半导体激光器是更强更干的光源，还可产生用于某些应用的极化光束（polarized）。



beam)。与其他各种激光器相比,半导体激光器更加小巧紧凑,价格更加低廉。此外,大部分半导体激光器能够在远红和红外范围内发光,这意味着与传统的离子、激发复合物和染料激光器相比,样品内部只要聚集较少能量,就可以产生相当少的热分解。最近,人们通常将半导体激光器发出的光限定在远红和红外范围内,这是一种好坏参半的事。一方面,很少物质在这个电子光谱范围内具有电子吸收,这意味着使用半导体激光器作为光源具有出色的选择性。例如,使用半导体激光器,血清样品中由色氨酸和胆红素引起的发光干扰就不会出现,因为这些物质不会被红光激发。另一方面,由于很少物质能够吸收红光,对于色谱或免疫化学分析后的检测被测物,就需要使用新型的荧光探针和标记。

一些聚次甲基染料在红光、远红和近红外区域具有吸收,在这些区域中也能产生有效的荧光。它们的取代基衍生物可以为半导体激光器激发提供出色的荧光标记。一些研究机构目前正积极致力于大的聚合不饱和染料分子的合成和开发,这些分子能够在红光和近红外区域内受激发光,这预示着不久的将来该研究将成为发光光谱最热门的研究领域之一。

## 2. 波长的选择

为了避免外来物质可能产生的激发和发射检测以及伪杂散光,选择合适的激发和发射光谱波长谱带是非常必要的。单色器和滤波器通常用于选择波长区域。

### 2.1 滤波器

滤波器(filters)属于吸收型,由带色玻璃组成,玻璃上涂有或者玻璃内夹有有机染料的凝胶,或者为吸收物质的溶液,或者为干涉滤波器。

吸收型滤波器可选择性的吸收部分入射多色光,允许特定波长的光透过。其主要可分为三类:①中性色滤波器(neutral tint);②取舍滤波器(cut-off filters);③带通滤波器(bandpass filters)。中性色或中密度滤波器在一定波长范围内的穿透几乎不变,一般用于具有强烈荧光的化合物,使光强度均匀降低。取舍滤波器的穿透特征是具有出色的取舍性,超过一定波长就只有极少或者根本没有穿透,专门用于阻止杂散光或者多余光进入检测器。带通滤波器可以穿透也可以阻止某一预先设定的波长谱带,通常由一系列的取舍滤波器组成。

干涉滤波器由两片具有高反射性只可部分穿透的银膜组成,这两片银膜被一片由完全透明物质(如 $MgF_2$ )制成的间隔膜分开。波长对应于银膜光学间距( $\pm 5 \sim 9nm$ )的光,以及波长为这种基本波长整数倍的光可以通过,而其他波长的光则被负面干涉所消除。这种滤波器适用于强烈光源,因为其吸收的能量极低,几乎不需要冷却。

### 2.2 单色器

单色器(monochromator)通常是具有一定狭缝序列的

衍射光栅。棱镜曾一度用于单色器,但现在已经几乎不再使用了,因为光栅更加经济,更加简单。多色光经过光栅时由于正面干涉和负面干涉被色散成各组成波长。有两类光栅是适用的:透射光栅和反射光栅。

在透射光栅中,交替排列着大量平行的透明和不透明的线。当光源从光栅一侧入射时,每条透明线将成为一个个独立的原始发射线性光源。单色光通过相邻透明线传输时会产生干涉,从而使某一点的光强度增大,其他点的光则消除。

反射光栅与透射光栅相似,唯前者在反射面上使用大量凹槽来引发干涉。

图5为平行光束照射在衍射光栅中两片相邻凹槽处。已知波长和垂直于光栅表面的入射角 $A$ ,则可以计算出角度 $B$ 的正面干涉:

$$m\lambda = d(\sin A \pm \sin B) \quad (17)$$

式中: $m$ 为干涉级。

当 $A$ 和 $B$ 位于光栅法线的同一侧时,则取正号;反之,当 $A$ 和 $B$ 不在同一侧时,则取负号。如果光线沿入射光方向原路反射出,则该公式可简化为

$$m\lambda = 2d \sin B \quad (18)$$

当 $m=0$ 时,入射角等于衍射角,这与入射光的镜反射相对应;当 $m=1$ 时,为一级衍射,是光谱的基本图形;当 $m=2$ 时,为二级衍射,是光谱的第二图形,其散射是一级衍射的2倍,更高级的衍射以此类推。这可能引起干涉,因此滤波器可用来消除高级别的光谱。

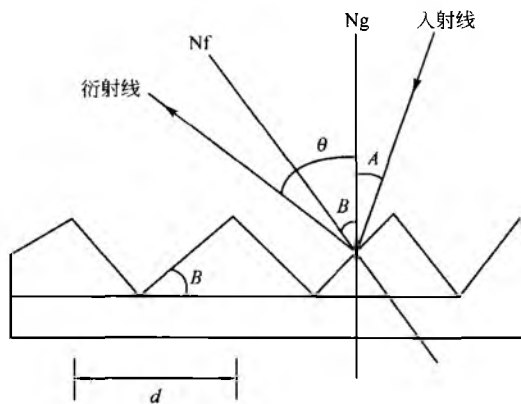


图5 衍射光栅。 $Ng$ 垂直于光栅, $Nf$ 垂直于光栅表面, $A$ 为入射角, $\theta$ 为衍射角, $d$ 为光栅间距, $B$ 为传输角

选择光栅时应考虑两个重要因素:传输角(blaze angle)和分辨率(resolving power)。传输角 $e$ 取决于传输波长。光栅在特定波长处的输出与铝镜的输出作对比,传输则与最高效率波长相对应:

$$\theta = \frac{A-B}{2} \quad (19)$$

$A$ 随仪器结构而恒定,而 $B$ 则根据式(17)随 $A$ 变化而变化。分辨率 $R$ 取决于光栅中凹槽的数量 $N$ 和干涉级数:

$$R = mN \quad (20)$$

R 对波长相对独立, 具有高分辨率的光栅可使多色光达到更好地使各组分波长的分离。

激发光栅安装于转盘上, 转动时可使不同波长的光通过狭缝聚集于样品上。样品发出荧光, 光被同样位于转盘上的发射光栅引导, 通过另一狭缝聚集于检测器上。

### 2.3 狭缝

狭缝 (slits) 可使光聚集于单色器和检测器中, 还可调整样品受激和发射的波长范围。狭缝宽越小, 选择性越强, 可产生窄范围的光谱带 (峰透射率一半时的谱带宽), 需要指出的是通过的光也相应减弱, 因此灵敏度也降低。狭缝可分为两类: 固定狭缝 (fixed slits) 和可变狭缝 (variable slits)。

固定狭缝采用不透明材料切制而成, 在使用固定狭缝的仪器中可以找到一系列的固定狭缝, 所需的狭缝宽可通过选用该组中任一狭缝来获得, 这样获得的结果具有重现性。

可变狭缝比固定狭缝使用得更加普遍, 也可分为两类: 单侧 (unilateral) 和双侧 (bilateral)。这两种狭缝都使用带有千分尺的斜片, 千分尺可使斜片移动到指定距离处, 而单侧狭缝只有一个可移动斜片, 另一个是固定的。双侧狭缝优于单侧狭缝, 因为前者可维持一条恒定的中心线, 而使用后者时, 改变狭缝宽亦会改变中心线。可变狭缝价格更加昂贵, 但对于常规分析更加方便。连续使用可使千分尺机械结构和斜片边缘逐渐磨损, 导致灵敏度和重现性下降。如果不清楚狭缝宽的具体知识, 分析工作中往往不会认为这是出现问题的主要原因。

### 3. 样品仓和样品池

样品仓 (cell compartment) 通常涂成全黑以最小化杂散光, 且使用荧光光度计测定时需加盖以阻止外来光进入。其通常设置成使样品发出的荧光与激发光的人射线成  $90^\circ$  角, 这种设计降低了杂散激发光的干扰。如果样品在激发波长处具有强烈吸收或者样品为固体, 可能会产生浓度猝灭, 特别是样品的量子产量较低时。采用前表面设计, 即发出的荧光与激发光入射线成  $30^\circ$  角, 可以解决这个问题。固体样品架可以采用玻璃、石英或二氧化硅窗。

荧光池由石英、二氧化硅或者某种特殊光学玻璃制成。玻璃池价格低廉, 适合于激发波长大于  $330\text{nm}$  时使用; 波长较低时, 必须使用石英池或者二氧化硅池。如果进行低温分析, 则需要使用低温冰箱 (cryorefrigerators) 或者杜瓦瓶 (图 6)。

样品置于杜瓦瓶中被照射时, 荧光和磷光在低温状态下均有可能被检出。如果样品仅发出磷光, 这种设计可用于测量磷光。当两种光同时存在时, 为了分离出磷光, 可在样品仓中安装一个成  $180^\circ$  角分开的机械斩光器, 以每分钟几千转的速度旋转。这样就可以有效隔离荧光, 因为荧光的存活时间仅为  $10^{-11} \sim 10^{-7} \text{ s}$ , 而发出的荧光在四分之一转时就完全消失了。磷光的存活时间要长一些 ( $10^{-4} \text{ s}$  至

几秒), 会被检测器采集。

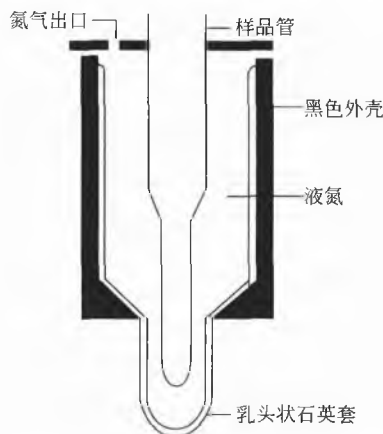


图 6 杜瓦瓶

## 4. 检测器

### 4.1 光电倍增管

光电倍增管 (photomultipliers) 是荧光光谱法中应用最为广泛的光学检测器, 可利用由倍增管电极链产生的二次发射来检测能量极低的光 (图 7)。光电倍增管由一个含有光阴极, 一系列由电子发射材料制成的倍增管电极和一个阳极的真空玻璃或石英管组成。样品发出的荧光撞击光阴极, 光阴极接着发出光电子。这些电子向第一个倍增管电极加速运动, 产生光电子, 撞击第二个倍增管电极, 产生更多的光电子, 依此类推, 直至最后一个倍增管电极, 此时来自于最后一个倍增管电极的电子撞击阳极, 阳极电流通过电阻, 产生信号电压。

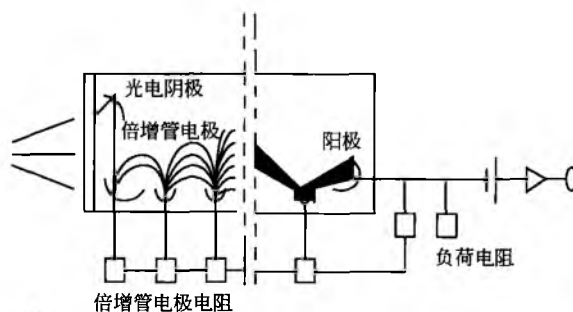


图 7 光电倍增管

光电倍增管的放大因子  $G$  取决于每个倍增管电极产生的电子增益  $g$  和倍增管电极的数量  $x$ :

$$G = g^x \quad (21)$$

倍增管每个电极的放大率与工作电压有关。因此, 光电倍增管需要一个非常稳定的高压电源。光谱响应取决于阴极种类和封装材料, 不受电子增殖过程影响。

室温条件下, 光电倍增管的噪声主要为发射噪声, 这是由于光能量本身所具有的量子化性质和电流的缘故。光

子随机到达阴极,即使光的总强度恒定不变。这样阴极发出的光电子到达阳极因此也是随机的,即使光电子脉冲的长期速率与光强度相对应恒定不变:

$$i_s = \sqrt{2eBG\Delta f i_a} \quad (22)$$

式中:  $B=1+g^{-1}+g^{-2}+\dots+g^{-Z}=\sum_{y=0}^Z g^{-y}$ ;  $f$  为电子噪声带宽, Hz。

该式表达了发射噪声电流  $i_s$  与阳极总电流  $i_a$  (光电流+热电流) 之间的关系,并且考虑到了倍增管的放大率  $G$ 。延长测量时间通常可以降低发射噪声,因为这样能够提高信噪比。噪声中的热成分可通过冷却倍增管而降低,倍增管存在着最低冷却温度。倍增管露置于强光下可能会改变其灵敏度,同时光电倍增管也不能露置于室内光线下,否则可能会引起不可逆的损坏。疲劳的倍增管可以实现再生,通常的方法是使倍增管在正常工作电压下于黑暗中工作一段时间。阴极或阳极电流均不得超出制造商规定的额定电流。光电倍增管的响应时间通常少于  $10^{-8}$  s,这已经快到足以检测大多数荧光衰变时间。

#### 4.2 图像检测器

光导摄像管 (vidicons) 有两种类型: 光电导靶电极摄像管 (photoconductive target vidicon)<sup>[1]</sup> 和图像正析管 (image orthicon) 或者反束光导摄像管 (return beam vidicon)<sup>[2]</sup>。在前者中 (图 8), 光照射到预先被电子束偏向的靶电极上, 在光敏物质中发生电荷分离。电荷载体放出的偏压与光在单位面积或像素中的碰撞次数成一定比例。当光栅扫描束回到这一区域时, 将取代偏压, 当电压通过负载电阻被检测时, 信号也被检测。照明像素使信号提高。

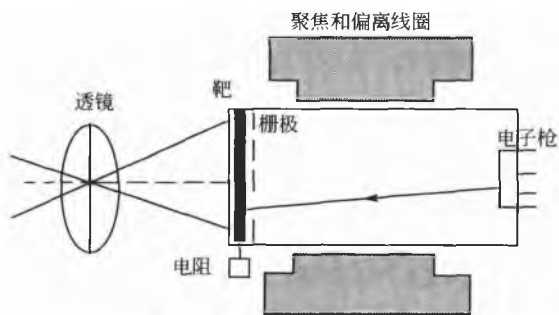


图 8 光电导靶电极摄像管

反束光导摄像管 (图 9) 使用一个光阴极来检测光图像。光电子在一个由类似于光电倍增管中倍增管电极的二次电子发射器组成的靶电极中形成, 产生的二次电子被网状物采集, 离开靶电极, 同时图像以对应于光阴极图像中光部分的荷正电区域形式储存下来。低速电子束扫过靶电极表面, 电子在具有带电靶电极的电子束中被吸收; 电子束仅在带少量电荷或者不带电荷的区域内散开。阳极最终收集到发散电子。与光导摄像管不同, 图像正析管中的照亮区域会使信号电流减弱。

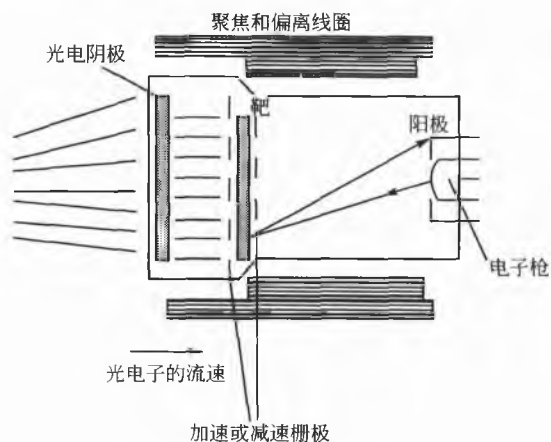


图 9 反束光导摄像管

增强型靶电极摄像管 (图 10) 检测的是光电子, 而不是光子。其有两类: SEC 摄像管, 其靶电极是一个二次电子导体, 比如  $MgO$ 、 $KCl$ 、 $MgF$  和  $Ag$ , 而硅放大靶电极 (SIT) 摄像管以硅二极管阵列作为靶电极。SEC 摄像管的灵敏度大约为普通摄像管的 10 倍, 而 SIT 摄像管则要达到 500 倍, 它们均适用于单光子检测<sup>[3]</sup>。后者的应用受其高噪声水平限制, 然而, 冷却摄像管、切断读出电子束均能够通过增加积分时间使噪声降低<sup>[4]</sup>。

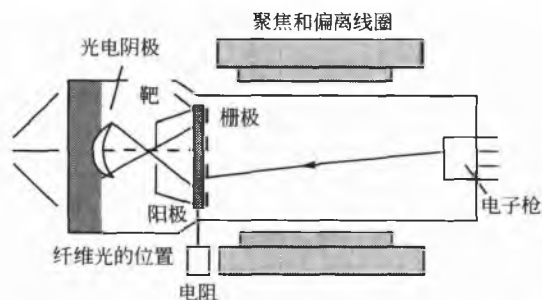


图 10 增强型靶电极摄像管

#### 4.3 电荷耦合器件 (charge-coupled devices, CCD)

CCD 传感器与普通检测器和照相胶卷相比, 能够提供更高的光灵敏度, 可用于捕获更弱的信号。这项技术导致了生物医学中使用的荧光显微镜的一场革命, 并开始对以荧光为基础的分析系统产生影响。

CCD 芯片由一系列光敏感元件组成, 实际上就是一些小的电容。这些电容通过发射光产生的电子充电。事实上, 每个到达 CCD 阵列原子的光子取代了部分正在提供电流源电子。这种电流源局限在称为像素的小限定区域 (电容) 内。

普通 CCD 芯片由若干像素组成, 例如:  $192 \times 165$ ,  $512 \times 512$ ,  $1024 \times 1024$  或者更多。要单独到达每一个像素从物理学上来说是不可能, 这很容易理解。事实上, CCD

传感器只是通过每个能放电的电容提供一个系列输出（每个像素能被读出）。电容成线性排列，并且存在一些控制闸，允许一个像素列与相邻列之间的转移。阵列中的最后一列可被转移到一种水平移动寄存器中。这种移动寄存器允许像素间的转移，水平寄存器的最后一个像素与输出闸相连。

CCD 芯片中装有计时器，分别对应于垂直转移器、转移闸和移动寄存器。因此，要读出信号，计时器首先通过在转移闸控制线上提供一个计时脉冲，使最后像素列转移至移动寄存器中；接着计时器在移动寄存器控制线上提供一个计时脉冲，以读出该像素列中的每一点；最后，计时器在垂直移动器上提供一个计时脉冲。像素高的可提高灵敏度和空间分辨率。

如果 CCD 阵列在暖环境（20℃）下使用，光敏感区域原子产生电流，同时也产生噪声。为了降低噪声，应当冷却 CCD 阵列原子，这样就减弱了其热激发。CCD 可以通过两种基本途径来冷却：电子的和化学的。

采用液化气体来冷却 CCD 是最有效的，但只有在需要达到最高灵敏度时才使用。这主要因为要用储藏和使用液化气体的装置。因此，使用最广泛的方法是采用电热冷却器，也就是人们常说的 Peltier 池。Peltier 池是一种以热泵形式工作的装置，池一侧的热量可转移到另一侧。这些池应当使用直流电，可以通过冷却其热面提高效率。为了给 CCD 提供一个强大的冷却源，除使用水或乙二醇冷却系统外，还可使用两个 Peltier 池。第一个池冷却 CCD，第二个池冷却第一个池，第二个池的热量则可通过液体循环排出。

## 5. 信号处理

系统放大并处理来自于检测器的电信号，并以可读形式显示出来。电子噪声带宽通常由系统决定，并依次影响信号噪声量，决定系统的响应时间。

### 5.1 DC 放大器

DC 放大器是最简单、最廉价的一种电子检测系统，在商用荧光计中使用得最为广泛。理想状态下，电路的放大阶段对系统只贡献极少噪声或没有噪声，光电倍增管应当只产生与光阴极出色性能和前述电子增殖过程有关的噪声。然而，光电倍增管的阳极暗电流可增加信号噪声，放大器对总噪声有其贡献。因此，为了获得更高的信噪比，需要选择合适的具有低暗电流的光电倍增管。

### 5.2 光子计数

当电子数达到百万，脉冲宽为纳秒时，应当注意阳极上来自于单个光子事件的电流脉冲。放大器将阳极电流脉冲转变为具有足够放大率和输出阻抗的成对电压信号，从而使其与鉴别器相结合，接着鉴别器形成尖脉冲，并舍弃低于设置阈值的脉冲。脉冲低于 10 Hz 的最大计数率限制了脉冲计数，前者由放大器—鉴别器的脉冲对的分辨率决定，但是已有文献报道可以通过强光水平处的多级辨别<sup>[5]</sup>

和 DC 转换<sup>[6]</sup>来提高上限。

## 6. 光谱校正

大部分仪器得到的激发和发射光谱均取决于该系统的波长敏感元件。为了弥补这一点以及每种仪器光损失量的差异，必然要对仪器进行校正，以获得真实的光谱图。校正结果应使校正后各仪器之间获得的光谱图具有可比性。尽管具有自身校正功能的仪器已经商业化，但通常过于复杂，且价格昂贵，不适用于常规分析工作。

激发光谱可使用响应恒定的热电堆、化学曝光计、标准化的光电管或者参比化合物进行校正。后两种方法也可用于发射光谱的校正。通过报告与参比化合物之间的相对荧光强度，可以预防任一仪器光源和光电倍增管的老化特性。任何具有宽激发和发射谱带的稳定荧光化合物均可使用。

## 其他内容

以下讨论的光谱内容涉及当前分析领域感兴趣的话题。许多评论文章对这些内容作了更加全面的讨论，在这里作适当引用。

### 1. 化学发光

由化学反应引起的荧光叫做化学发光，在燃烧过程中普遍存在，自由基被氧分子氧化。但是化学发光在溶液中却极少发生，这是因为引起化学发光所必需的大多数反应物在溶液中的存活时间非常短。化学发光产生的磷光亦不会存在于溶液中，因为液相中会发生三重态猝灭。

许多化学发光反应是众所周知的，人们对 3-氨基邻苯二甲酰肼（鲁米诺）氧化反应的研究已经非常广泛<sup>[7~14]</sup>。由某种草酸衍生物反应产生的发光是另一个典型例子<sup>[15]</sup>。当化学发光存在于有机生物体中时，我们称之为生物发光，最著名的例子就是萤火虫。许多评论文章对各种生物发光进行了描述，如果想获得这方面的详细评述，可以参考 Decker<sup>[16]</sup> 和 Kricka<sup>[17]</sup> 的文章。

因为化学发光并不需要光激发，所以就不需要灯源和激发单色器。传统的荧光分光光度计可以用来测量化学发光，但不需要使用激发光。

### 2. 光纤传感器

光纤荧光计是最近刚刚发展起来的，为现场荧光光谱法带来了巨大希望。在光纤荧光计中，样品化合物和样品池被一根光纤电缆所代替。光源发出的光经光纤纤维传播至其末端，发生光的吸收、反射或散射或发出荧光。荧光传感器包括众多光纤传感器，基于的原理有直接荧光测定、单波长和多波长<sup>[18,19]</sup>、荧光猝灭<sup>[20,21]</sup>或者竞争性结合<sup>[22]</sup>等行为的荧光传感器都是可行的。由于缺少可直接发出荧光的被测物，大部分荧光光学传感器（FLOPS）均基于由传感器荧光团中被测物产生的猝灭。

仪器装置由光源、光学滤色片（如有必要）、光纤、传感区域（通常与荧光探针以共价键形式结合）和检测器组成。激光器、氙灯、氢灯、氘灯、汞灯和卤素灯以及发光二极管（LED）均可作为激发源。激光器可提供具有窄谱带宽的高强度激发，特别适合于光损失较多的远程传感。然而，激光器非常昂贵，且需要一个高压电源。最有前途的光源是 LED，其在低压低电流下工作，体积小，使用寿命长，且不产生热量。然而，它的缺点是只能在从红外光到蓝光的范围内工作。光纤荧光光度计可以在连续激发模式或脉冲激发模式下工作，后者可用于时间分辨（time-resolved）荧光法。光纤材料决定测定波长，熔融石英、玻璃和塑料纤维都可以使用。石英纤维在紫外光区到 220nm 的范围内使用，但是十分昂贵。玻璃纤维适用于可见光区，且价格适中。塑料纤维成本最低，但仅限于在 450nm 以上范围内使用。可直接使用模拟和数字电路或者微处理器进行测量。光电倍增管、光电二极管、光传导池、光电检测器和 CCD 均可作为检测器。

与目前在传感分析中应用较为广泛的电极相比，光纤传感器更加便宜，更加耐用，体积更小。在将来，我们会看到后者在分析化学和临床化学等领域中逐渐取代前者。其应用领域包括地下水和污染监测；工艺控制；具有放射性、爆炸性、生物性或者其他危害的高危险地区的远程光谱分析；容量分析和生物传感等。参考文献中有几篇文章对光传感从不同方面进行了讨论<sup>[23~25]</sup>。FLOP 是目前光谱学中最热门的课题之一。

### 3. 分离方法中的发光检测

应用发光光谱法分析实际样品的局限性是缺乏专属性，因为许多化合物的发光光谱具有相似的谱带形状和光谱位置。解决这个问题的明显方法就是在进行荧光定量前将被测物和干扰组分彼此分开。高效液相色谱法（HPLC）和相关分离法可与荧光光谱法相结合，从而具有光谱法的灵敏度和分离法的专属性等优点。

发光光谱为流动系统，如 HPLC、电泳、流动注射和流动血细胞计数提供了一种非常灵敏的检测方法。HPLC 荧光检测器在操作上与传统的荧光计相似，大多数荧光检测器使用滤色片作为简单的单色器，通过滤色片光的谱带要宽于通过单色器光的谱带，这有利于提高灵敏度，因为有更多的光激发样品并被检测器采集。另一方面，光栅单色器也可以提高灵敏度。荧光检测器易受某些干扰物质的影响，即背景荧光和猝灭，从而干扰荧光测量。

在 HPLC 荧光检测器的使用过程中，来自于紫外或可见光源的光通过单色器达到某种强度后聚集于样品池中，样品池处于联机状态，接受分离色谱柱中的流出液。样品向各个方向发出荧光，这样发出的光可通过位于激发光路和液体流动方向的直角处的检测器进行测量。杂散激发光或散射激发光可被滤波器阻截，避免进入检测器，同时采用合适的检测器测量发光能量。溶剂对荧光强度有强烈影响，认识到这一点非常重要。由于拉曼效应（Raman

effect）的存在，溶液还会发生光散射，这种散射光的能量比激发光略低。正因为这个原因，选择的发射波长通常要大于散射拉曼光的波长。流动池已设计成既可用于荧光测量，也可用于吸收度测量。通过同时检测吸收度和荧光信号，扩大荧光样品的线性动态范围，能够大大提供定量的准确性。如果样品浓度高，其在激发波长处的吸收度大于 0.02，此时荧光强度与浓度不成线性关系。然而，在这种高浓度的情况下，样品的光吸收度通常是可以测量的，且与浓度呈线性关系。而荧光的测定浓度通常比吸收度法的测定浓度低  $10^3 \sim 10^9$  倍。

以激光作为光谱中发光检测器的激发源，已经得到普遍应用，这是因为其具有高激发能量和高度聚焦束。激光束的高准直性使其成为一种出色的激发源，在毛细管电泳中常配合微孔池和微孔管加以利用。激光束通常可以聚焦于直径只有几微米的某一点上。将激光激发和荧光检测同时使用，毛细管电泳法测定的被测物浓度最低可达 1 阿托摩尔（attomole）。以激光作为激发源，其具有的高能量和高准直性等优点可用于开发新方法考察各种粒子的性质，包括细胞、藻类、细菌和幼体等，这些粒子本身具有荧光或者能够形成荧光衍生物。通过流体动力学聚焦，可以获得一种精确的独立粒子流，粒子流被激光束询问，因为激光束每次只激发一个粒子。单池通路（single-cell passage）可通过调节两种流速得到保证，从而避免了双细胞（粒子）之间的碰撞。该方法可用于细胞的快速分析，称为流式细胞计量术（flow cytometry）或者荧光细胞分选（fluorescent cell-sorting）。

### 4. 时间分辨（time-resolved）和相分辨（phase-resolved）荧光法

前面所论述的光谱法是基于在恒定激发条件下所产生荧光的强度测定。稳态荧光法（steady-state fluorimetry）起源于样品在激发光连续电子束下的激发，传统荧光计中使用的灯和电源是连续激发源。在样品最初激发的短暂时间之后，当被测物的激发速率等于包括荧光在内的所有最低激发单重态去活化进程的速率和时，稳态形成。此时，检测到的荧光强度不随时间变化而变化，同时产生可被光检测器检测的短暂恒定信号。随着现代光电元件的发展，采用脉冲闪光灯，发出脉冲间隔约为 0.2ms、延续时间为 2~10ns 的光，来激发潜在的荧光样品，已经逐渐成为可能。脉冲式激光器甚至能够产生延续时间更短的脉冲（一般可低至 1ps）。被单个脉冲激发的荧光样品将以指数级速率发生衰变，直至下一个脉冲再次激发样品。脉冲光源激发样品产生的荧光被检测后，其时间函数可用与多通道脉冲分析器联合使用的快速采样示波器进行显示。前一种方法叫做脉冲荧光法（pulse fluorimetry），而后者则叫做时间相关单光子计数器（time-correlated single-photon counting）。无论哪种情况下，衰变时间大大长于脉冲灯特性的荧光，可通过将荧光强度与时间作半对数图进行分析，而此图形则表现为一直线（如果几个荧光团相似但衰变时间

G

不同,则表现为一系列重叠直线),直线的斜率与衰变时间成正比,纵坐标截距则与含有荧光团的标准溶液浓度相关,这可以用于定量分析。然而,如果光源脉冲时间与荧光团衰变时间相似,那么应当从所检测到的信号中扣除光源的贡献,从而得到荧光团的衰变特征。通常使用计算机来解析光源和荧光团输出的临时合成信号。

脉冲源(时间分辨)方法可以通过几种荧光体发光的衰变时间对其加以区别,而不是通过它们的荧光强度。这意味着一些紧紧重叠在一起的荧光,如儿茶酚胺类的荧光,可以同时定量,而不需要进行化学或机械分离。

时间分辨荧光法也可用于消除由瑞利散射(Rayleigh scatter)和拉曼散射(Raman scatter)引起的杂散光干涉。后一种现象仅仅存在 $10^{-14} \sim 10^{-13}$  s,因为其持续时间远远短于光源或激光脉冲,由其产生的光可以从最终到达检测器的信号中加以消除。一台时间分辨荧光计得到的数据可以与另一台得到的数据直接进行比较。对于稳态荧光法来说,如果不进行校正可变波长仪器的响应,那是不可能的。

相分辨荧光法是另一种有效的荧光分析技术,可用于测定具有重叠荧光光谱的物质。在相分辨荧光法中,光源脉冲和荧光发射间的相角可将不同来源的荧光加以区分。要获得该方法的其他知识,可参阅由 Demas 撰写的文章<sup>[28]</sup>。

随着高效计算机和高级程序的应用,传统荧光装置的检测限得到提高。如今在单分子水平处进行分析已经成为可能。这些研究加深了我们对分子生物化学和分子细胞学的理解<sup>[28]</sup>。

### 参考文献

1. Lubszynski, H. G. Review of TV Camera Tubes and Electron Optics. *Adv. Electron. Electron. Phys.* 1979, 52, 11.
2. Redington, R. W. Photoelectronic Imaging Devices; Biberman, L. M., Nudelman, S., Eds.; Plenum Press: New York, 1971; 2, 193-202.
3. Milch, J. Slow Scan Sit Detector for X-Ray-Diffraction Studies using Synchrotron Radiation. *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 1979, NS-26, 338.
4. Gruner, S. M.; Milch, J. R.; Reynolds, G. T. Evaluation of Area Photon Detectors by a Method Based on Detective Quantum Efficiency (DQE). *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 1978, NS-25, 562-565.
5. Gustafson, T. L.; Lytle, F. E.; Tobias, R. S. Sampled Photon Counting with Multilevel Discrimination. *Rev. Sci. Instrum.* 1978, 49, 1549-1550.
6. Marino, D. F.; Ingle, J. D., Jr. Microprocessor-Based Data Acquisition System for Chemiluminescence Measurements. *Anal. Chem.* 1981, 53, 1175-1179.
7. Gundermann, K. D. Chemiluminescence in Organic Compounds. *Agnew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1965, 4, 566-572.
8. McCapra, F. Q. Chemiluminescence of Organic Compounds. *Rev. Chem. Soc.* 1996, 20, 485-572.
9. Haas, J. W., Jr. Chemiluminescent Reactions in Solutions. *J. Chem. Educ.* 1967, 44, 396-402.
10. White, E. H.; Roswell, D. F. The Chemiluminescence of Organic Hydrazides. *Acc. Chem. Res.* 1970, 3, 54-62.
11. Cormier, M. J.; Hercules, D. M.; Lee, J., Eds.; Chemiluminescence and Bioluminescence; Plenum Press: New York, 1973.
12. Gundermann, K. D. Recent Advances in Research on the Chemiluminescence of Organic Compounds. *Top. Curr. Chem.* 1974, 46, 61-65.
13. Roswell, D. F.; White, E. H. Methods of Enzymology; DeLuca, M. A., Ed.; Academic Press: New York, 1978; 57, 409.
14. Rauhut, M. M. Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1979; 5, 416.
15. De Jong, G. J.; Kwakman, P. J. M. Chemiluminescence Detection for High Performance Liquid-Chromatography of Biomedical Samples. *J. Chromatogr.-Biomed.* 1989, 492, 319-343.
16. Decker, K. A.; Hinkkanen, A. Luminometric Determination of Flavin Adenine dinucleotide. *Methods Enzymol.* 1986, 122, 185-192.
17. Kricka, L. J. Chemiluminescence and Bioluminescence. *Anal. Chem.* 1999, 71, 305R-308R.
18. Saari, L. A.; Seitz, W. R. Immobilized Morin as Fluorescence Sensor for Determination of Aluminum (III). *Anal. Chem.* 1983, 55, 667-670.
19. Zhujun, Z.; Seitz, W. R. Optical Sensor for Oxygen Based on Immobilized Hemoglobin. *Anal. Chem.* 1986, 58, 220-222.
20. Lubbers, D. W.; Opitz, N. Proceedings of the International Meeting on Chemical Sensors Fukuoka Japan. Elsevier, Amsterdam, 1983; 609-619.
21. Soper, S. A.; Warner, I. M.; McGown, L. B. Molecular Fluorescence, Phosphorescence, and Chemiluminescence Spectrometry. *Anal. Chem.* 1998, 70, 477R-494R.
22. Schultz, J. S. Affinity Sensor-A New Technique for Developing Implantable Sensors for Glucose and Other Metabolites. *Diabetes Care* 1982, 5, 245-253.
23. Seitz, W. R. Chemical Sensors Based on Fiber Optics. *Anal. Chem.* 1984, 56, 16A-34A.
24. Peterson, J. I.; Vurek, G. G. Fiber-Optic Sensors for Biomedical Applications. *Science* 1984, 224, 123-127.
25. Seitz, W. R. Optical Sensors for Clinical Applications. *J. Clin. Lab. Anal.* 1987, 1, 313-316.
26. Demas, J. N.; Schulman, S. G., Eds.; Molecular Luminescence Spectroscopy: Methods and Applications; Part

- 2 Wiley-Interscience; New York, 1988; Chap. 2.
27. Weiss, S. Fluorescence Spectroscopy of Single Biomolecules. *Science* 1999, 283, 1676—1683.
28. Pederson, T. Movement and Localization of RNA in the cell nucleus. *FASEB J.* 1999, 13, S238—S242.
29. Hercules, D. M. Fluorescence and Phosphorescence Analysis; Wiley; New York, 1966.
30. Guilbault, G. G. Fluorescence; Marcel Dekker, Inc., New York, 1968.
31. Parker, C. A. Photoluminescence of Solutions; Elsevier; Amsterdam, 1968.
32. Udenfriend, S. Fluorescence Assay in Biology and Medicine; Academic Press; New York, 1962, 1968; 1, 2.
33. Becker, R. Theory and Interpretation of Fluorescence and Phosphorescence; Wiley; New York, 1970.
34. Pesce, A.; Rosen, G.; Pasby, T. Fluorescence Spectroscopy; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1971.
35. White, C.; Argauer, R. Fluorescence Spectrometry; A Practical Approach; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1971.
36. Winefordner, J. D.; Schulman, S. G.; O'Haver, T. C. Luminescence Spectrometry in Analytical Chemistry; Wiley; New York, 1972.
37. Zander, M. Phosphorimetry; Academic Press; New York, 1968.
38. Guilbault, G. Practical Fluorescence; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1973.
39. Schenk, G. Absorption of Light and Ultraviolet Radiation; Fluorescence and Phosphorescence Emission; Allyn and Bacon; Boston, 1973.
40. Schulman, S. G. Fluorescence and Phosphorescence Spectroscopy; Physicochemical Principles and Practice; Pergamon; Oxford, 1977.
41. Wehry, E. L., Ed. Modern Fluorescence Spectroscopy; Plenum; New York, 1976, 1981; 1—2, 3—4.
42. Lakowicz, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd Ed.; Plenum; New York, 1983, 1999.
43. Schulman, S. G., Ed. Molecular Luminescence Spectroscopy; Methods and Applications; Part 1, Part 2, Part 3 Wiley-Interscience; New York, 1985, 1988, 1993.
44. Sharma, A.; Schulman, S. G. Introduction to Fluorescence Spectroscopy; Wiley-Interscience; New York, 1999.
45. Ichinose, N.; Schwedt, G.; Schnepel, F. M.; Adachi, K. Fluorescence Analysis in Biomedical Sciences; Wiley Interscience; New York, 1991.

(陈阳译)

# G

## 光谱分析技术：原子吸收和发射分光光度法

John P. Oberdier

Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U. S. A.

### 引言

在制药工业中，通常需要测定各种样品中金属元素的含量。这些样品可以是自身含有金属元素的品种，如在药物中加入钙或镁以发挥其疗效，也可以是生物制品，如血、尿或组织。近来，人们已经完成了对生物过程中金属元素的研究。此外，还可对药物中痕量金属污染进行监测，从而避免产品发生降解。大量技术可用于金属元素分析，其中比较常用的是比色法、滴定法、原子吸收光谱法（AA）、荧光光度法和发射光谱法。发射光谱中最常见的是电感耦合等离子体（ICP）技术。因此，分析者应当为分析样品选择最合适的方法。本文的目的在于对原子吸收光谱法和 ICP 的作用和局限性作一个概述，以帮助大家选择最佳技术解决问题。

### 原子吸收光谱法的工作原理<sup>[1]</sup>

原子吸收光谱法（atomic absorption spectrophotometry）建立在待测元素自由基态原子对光的吸收基础之上。



图1 原子吸收光谱法 (a) 和发射光谱法 (b) 主要元件比较 (经 PE 公司许可)

### 原子吸收光谱法的进样技术

原子吸收光谱法的局限性之一是样品通常必须为溶液状态，且最好为水溶液。因此，样品必须能直接溶解于适当溶剂中，或者需要进行前处理，如酸消解。有一种情况是例外的，就是某些采用石墨炉的仪器，经改造后可直接测定固态样品。另一个局限性是每个元素只能单独测定。原子吸收光谱法有 4 种基本方法：

- (1) 火焰法（吸入样品溶液）；
- (2) 冷原子法（或者化学蒸发）；
- (3) 氢化物生成法（或者化学蒸发）；

原子基态是一种电子状态，此时所有电子都处于最稳定的结构或轨道中。当光被原子吸收时，一个或更多的电子被激发至某个更高的能量轨道上。所谓自由是指使原子中电子从基态跃迁至激发态的光能量或者波长不受任何因素影响。

因为每种元素都只在特定波长处发生吸收，因此用于某种金属元素分析的元素灯仅在特定波长处发光，对该元素具有专属性。原子吸收光谱法中使用的元素灯有两类，分别为空心阴极灯（HCL）和无极放电灯（EDL）。这些灯内具有一个处于惰性气体中的金属壳，使用一种充电阳极/阴极或一种发射频率来激发金属原子。受激原子一旦释放，即将吸收的能量以光能的形式发射出来，发出光的波长与元素种类相对应。光能通过样品池集中于单色器和检测器中（图 1）。

在一定的实验条件下，样品池内被测物浓度与被吸收光的能量成比例，符合 Beer 定律。这种关系定义为  $A = abc$ 。式中： $A$  为吸收值； $a$  为被测物的吸收系数； $b$  为样品池的光路长度； $c$  为被测物浓度。将未知样品的吸收值与已知浓度样品的吸收值进行比较，就可以得到未知样品的浓度。

#### (4) 石墨炉法（或者电热原子化）。

所有这些方法都有一个共同目标，就是使被测物原子以自由基态原子的形式进入光路。因此，必须存在一个提供足够能量的平衡，这样被测物原子就可以解除与样品基体中其他原子（分子）间的联合，反之如果没有过量的能量，被测物原子中的电子就保持在基态。

火焰原子吸收光谱法是将样品溶液吸至燃烧腔内，腔内充满了燃烧气和氧化气的混合气，然后混合气在一种特殊设计的燃烧头中被点燃（图 2）。光束在燃烧器下方的通路中导入，这样就可以测量出火焰中被测物原子的吸收度。最常用的混合气是空气乙炔气和一氧化氮乙炔气。文献资料中详细给出了实验条件，而且大多数仪器厂家都提供了



仪器的推荐设置。另外,大多数仪器均由计算机控制,常用的实验条件能够在操作界面中直接调用(图3)。这些条件为新方法的建立提供了良好的起点,在多数情况下,仪

器厂家还提供了可能存在的干扰以及元素的线性范围等信息。

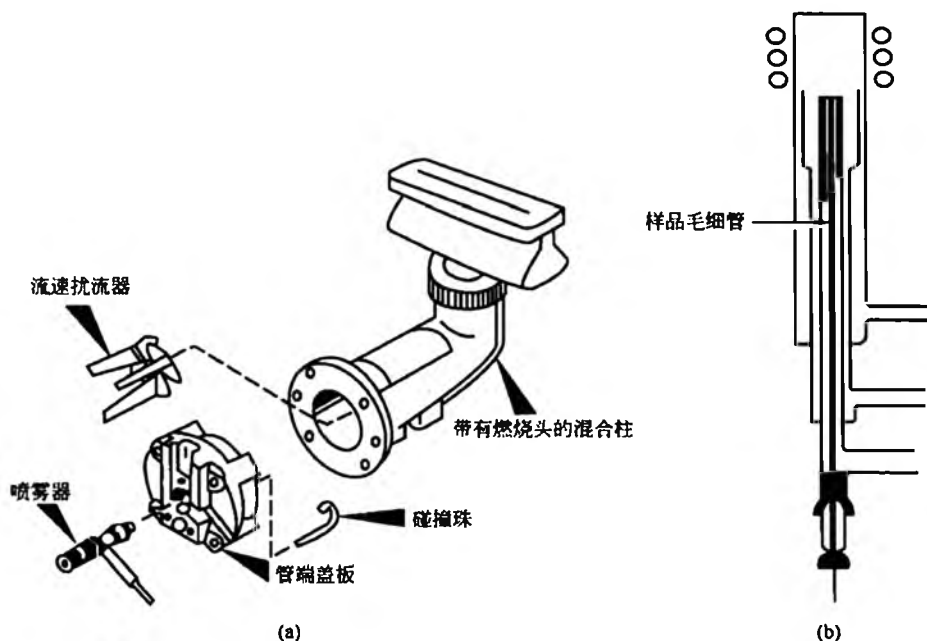


图2 原子吸收燃烧头(a)和ICP氩气等离子体炬(b)的比较图(经PE公司许可)

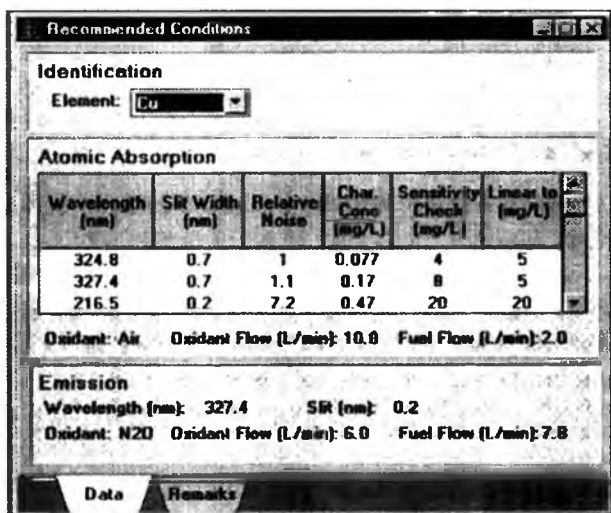


图3 火焰原子吸收光谱法测定铜元素的常见操作界面(经PE公司许可)

表1列出了原子吸收光谱法中各种元素的检测限。通常,火焰原子吸收光谱法用于ppm级的定量分析,易于实现大体积常规样品的自动化操作。其他三种方法主要用于痕量分析,也可用于多种元素ppm级的定量分析。

冷原子法用于测定汞元素,其用硼氢化钠或氯化亚锡将汞还原至零价,然后用氮气或空气流将汞蒸气吹入与分光光度计光路对齐的气体池内。图4为常见仪器示意图。

图中可获得一个宽峰,测量其峰高或峰面积,与已知浓度样品获得的结果进行比较,实现定量。需要注意的是,这种方法测定的是样品中的总汞。因此,汞浓度和被测样品体积对含量的灵敏度至关重要。总的来说,样品体积应低于50mL,但偶尔也会使用100mL。这种方法的一个潜在问题就是汞必须处于易被还原的状态。如果测定的是不能产生汞原子的络合物或有机汞化合物,那么测定前应对样品进行预处理。通常来说,测定前对样品进行酸消解,这样可使样品达到便于测定的理想状态。

氢化物生成法与前述的冷原子法十分相似,可用于测定7种元素:砷、铋、锗、锑、硒、锡和碲。首先,样品与硼氢化钠反应,生成具有挥发性的氢化物,然后这些氢化物被氢气流吹入一个加热的气体池中,样品基体中的任何物质都可能轻易阻止氢化物的生成,从而产生干扰。然而,这种方法却适用于许多复杂样品,因为采用其他方法非常困难或者根本不可能。

原子吸收光谱法的最后一个方法是石墨炉法,一个管状高温炉被置于分光光度计的光路中,这样光聚集在样品管中心的下方。样品管是一个由压缩石墨制成的圆柱形中空管,有的还喷涂高温石墨涂层。这种样品管也可安装于L'vov平台(L'vov platform)上。这种方法的突出优势之一在于高温炉和样品管的设计,大大提高了加热的均一性。加热不稳定会导致重现性差,以及样品飞溅或损失。样品腔内充满1个大气压的惰性气体,以防止石墨管在随后的程序升温过程中发生氧化。石墨管底部或L'vov平台中样

品的进样体积通常为  $5\sim 50\mu\text{L}$ ，然后以电子加热方式蒸去样品溶剂 ( $100\sim 200^\circ\text{C}$ )。如果样品中含有有机物，通常在  $600\sim 1000^\circ\text{C}$  温度下进行灰化。然后，惰性气流停止，待测元素原子化 ( $1500\sim 3000^\circ\text{C}$ ) 并进行测定。原子化前可在样品中加入基质改进剂 (matrix modifiers)，以避免被测物的损失。在方法开发初期，应对所有参数进行设置并加以

优化。这些初始设置可以在文献或多数仪器厂家处轻松获得。一旦实验条件确定，所有工作可以自动完成，包括自动进样。在这里我们特别推荐使用自动进样器，因为重现性差的主要原因之一就是石墨管中样品进样体积不正确或不一致。多数自动进样器可自动加入基质改进剂，或者在样品中自动加入已知量的标准品，进行标准加样回收实验。

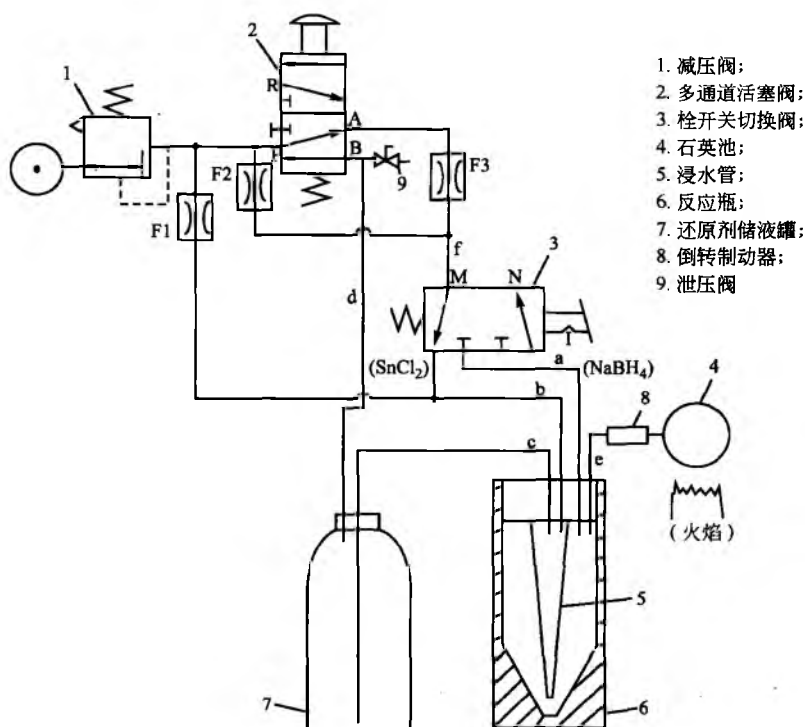


图4 冷原子法或氢化物生成法的常见示意图 (经 PE 公司许可)

石墨炉法的一个固有问题就是背景校正。当金属原子发生原子化时，光可能发生与金属原子浓度无关的吸收或损失。例如，少量部分炭化物质也可能发生原子化，引起光散射。可以采用两种方法进行背景校正：连续校正 (continuum correction) 和塞曼校正 (Zeeman correction)。连续背景校正假设原子吸收以外因素产生的光吸收或损失，在整个光谱范围内是不变的。因此，样品信号可以通过扣除被测元素无吸收波长处的背景吸收来进行校正，适用于光散射在整个光谱范围内连续存在的背景效应。然而，许多背景效应是不连续的，被测物的信号校正可能会偏高或偏低。塞曼背景校正是基于塞曼效应。1896 年，塞曼教授发现当原子线性光谱进入磁场时，谱线将被分割成多个部分。因此，样品的校正信号可以通过扣除有无磁场存在时的样品吸收而得到。因为背景实际上是在被测物波长处进行测量的，所以通常不容易产生误差。

## 原子吸收光谱法的分析误差来源

分析误差一般有两个来源：一是分析过程中的干扰；

二是样品制备过程中的污染。分析过程中的潜在干扰因素包括：基质效应、化学干扰、电离干扰和光谱干扰。

基质效应通常指样品和标准品物理参数之间的差异。例如，火焰原子吸收光谱法中，如果样品溶液和标准品溶液的黏度相差很大，那么溶液进入燃烧腔内的速度就不同，响应值也就不同。通常可以向分析溶液中加入  $1\%\sim 2\%$  的金属盐，从而消除黏度的影响。化学干扰集中于络合物和初始存在的金属化合物。存在这类干扰时，通常加酸消解样品以破坏有机物质。对于化学络合物，可以加入大量的竞争性离子，替代酸消解处理。电离干扰对于钠、钾和锂等非常常见，为了排除其干扰，通常加入大量的其他元素。例如，测定钾时，可以在分析样品中加入  $1\%\sim 2\%$  的锂，离子化的钾原子可与大量的锂原子发生碰撞，结果使钾原子能量发生损失，这些原子将回到基态进行测定。最后，还可能存在光谱干扰，如测定波长处的分子吸收或原子吸收。在实践中，只要实验人员能够认识到潜在干扰并采取适当的方法使其影响最小化，这种光谱干扰一般都可以排除，复杂样品也可以快速准确地进行测定。

样品制备过程中的污染是原子吸收光谱法最主要的误

差来源，特别是在分析 ppm 级样品时。容器清洗方法不正确或者容器材料选择错误（如用玻璃代替塑料），这些都可以引起污染。另外，污染还可能来自于制备样品的试剂。进行痕量分析时，需要使用特殊级别的酸试剂或基体改进剂。污染的另一种来源是环境。例如，在分析铝时，甚至

一个灰尘颗粒就可以产生 10 倍或更大的误差。总而言之，在处理样品的整个过程中，必须谨慎考虑样品接触的每一种材料和试剂。参考文献中列出了一些关于原子吸收光谱法其他方面的文章<sup>[2-6]</sup>。

表 1 检测限 (单位 mg/L)

元素	火焰 AA	Hg/氢化物	GFAA	ICP 发射	ICP-MS	元素	火焰 AA	Hg/氢化物	GFAA	ICP 发射	ICP-MS
Ag	1.5	1	0.02	0.9	0.003	Li	0.8		0.06	0.3	0.0001
Al	45		0.1	3	0.006	Lu	1000			0.2	<0.0005
As	150	0.03	0.2	50	0.006	Mg	0.15		0.004	0.07	0.007
Au	9		0.15	8	0.001	Mn	1.5		0.035	0.4	0.002
B	1000		20	0.8	0.09	Na	0.3		0.02	3	0.003 <sup>1)</sup>
Ba	15		0.35	0.09	0.002	Nb	1500			10	0.0009
Ba	1.5		0.008	0.08	0.03	Nd	1500			2	0.002
Bi	30	0.03	0.25	30	0.0005	Ni	6		0.3	5	0.005
Br					0.2	Os	120			6	
C				75	150	P	75 000		130	30	0.3
Ca	1.5		0.01	0.02	0.05 <sup>1)</sup>	Pb	15		0.06	10	0.001
Cd	0.8		0.008	1	0.003	Pd	30		0.8	3	0.003
Ce				5	0.0004	Pr	7500			2	<0.0005
Cl					10	Pt	60		2.0	10	0.002
Co	9		0.15	1	0.0009	Rb	3		0.03	30	0.003
Cr	3		0.03	2	0.02	Re	750			5	0.0006
Cs	15		0.1		0.0005	Rh	6			5	0.0008
Cu	1.5			0.4	0.003	Ru	100		1.0	6	0.002
Dy	50			2	0.001	S				30	70
Er	60			1	0.008	Sb	45	0.15	0.15	10	0.001
Eu	30		0.1	0.2	0.0007	Sc	30			0.2	0.02
F					10 000	Se	100	0.03	0.3	50	0.06
Fe	5			2	0.005 <sup>1)</sup>	Si	90		1.0	3	0.7
Ga	75			4	0.001	Sm	3000			2	0.001
Gd	1800			0.9	0.002	Sn	150		0.2	60	0.002
Ge	300			20	0.003	Sr	3		0.025	0.03	0.0008
Hf	300			4	0.0006	Ta	1500			10	0.0006
Hg	300	0.009	0.6	1	0.004	Tb	900			2	<0.0005
Ho	60			0.4	<0.0005	Te	30	0.03	0.4	10	0.01
I					0.008	Th					<0.0005
In	30			9	<0.0005	Ti	75		0.35	0.4	0.006
Ir	900		3.0	5	0.0006	Tl	15		0.15	30	0.0005
K	3		0.008	20	0.015 <sup>1)</sup>	Tm	15			0.6	<0.0005
La	3000			1	0.0005	U	15 000			15	<0.0005

续表

元素	火焰 AA	Hg/氢化物	GFAA	ICP 发射	ICP-MS	元素	火焰 AA	Hg/氢化物	GFAA	ICP 发射	ICP-MS
V	60		0.1	0.5	0.002	Yb	8			0.3	0.001
W	1500			8	0.001	Zn	1.5		0.1	1	0.003
Y	75			0.3	0.0009	Zr	450			0.7	0.004

1) 表示 ICP-MS 的检测限是在冷等离子体条件下得到的；所有检测限的单位为  $\mu\text{g/L}$ ，是将各种元素的标准溶液稀释后测定得到的，置信水平为 98% (3 倍 SD)；原子吸收 (Model 5100) 的所有检测限是在最佳仪器参数条件下测定所得，其中使用了双 EDL 系统。ICP 发射 (Optima 3000) 的检测限是使用放射等离子体同时测定多个元素得到的。使用轴向等离子体 (Optima 3000XL)，检测限通常可以提高 5~10 倍。冷原子法的汞检测限是使用 FLASTM-100 或带有汞齐化附件的 FLAS-400 流动注射系统得到的。对于没有汞齐化附件的系统，其检测限为  $0.2\mu\text{g/L}$  (空心阴极灯)， $0.05\mu\text{g/L}$  (双 EDL) (使用 FLASTM-100 或 FLAS-400 测汞仪，没有汞齐化附件时检测限为  $<0.010\mu\text{g/L}$ ，带有汞齐化附件时检测限为  $<0.001\mu\text{g/L}$ )。氢化物法检测限是使用 MHS-10 汞/氢化物系统所得。石墨炉原子吸收的检测限是在进样体积  $50\mu\text{L}$ 、L'vov 平台和全 STPF 条件下测得的 (Model 5100PC，配有 5100ZL Zeeman 或 Model 4110ZL 石墨炉附件)。SIM AA 6000 的检测限是在多源模式下测得，一般为单源模式的 2~5 倍。重复进样可进一步提高石墨炉法的检测限。

ICP-MS 的检测限使用 3S 积分方式测得。

## 发射光谱法的工作原理及技术<sup>[7]</sup>

发射光谱法可以说是对原子吸收光谱法的补充。在发射光谱法中，原子中的电子被电能或热能激发至一个不稳定的能态，当原子回到一个更稳定的能态或基态时，能量以光的形式释放出来，发出的光被检测，即用于发射光谱法的定量。发出光的波长与被测元素相对应。图 1 对原子吸收光谱法和发射光谱法的主要元件进行了比较。

元素发光早在 18 世纪中期就已经报道，到 19 世纪中期，成为 Kirchoff 和 Bunsen 发现 4 种元素的基础。然而，直到 20 世纪，发射光谱法才真正成为有效的分析方法。第一台分析仪器采用火花放电提供能量，激发原子发光。这种方法可进行定量和半定量分析，但还不能满足许多应用的准确度和精密度的要求。例外的情况就是碱土元素的分析，只需少量能量就可使电子提升到激发态。通常使用的丙烷火焰，既简单又经济，推动了临床分析仪的发展，能够测定血尿样品中的钠钾，至今在临床实验室中仍经常使用。直到氩等离子体火焰的出现，人们才找到了一种可靠的高能激发源，其可激发绝大多数原子发光。这种激发源直接推动了电感耦合等离子体 (ICP) 光谱法的发展。

如前所述，氩等离子体火焰为 ICP 提供了一种可靠的能量来源。在两个同中心的石英炬管中通入氩气，施加反射场时即产生等离子体 (图 5)。等离子体火焰的温度可高达  $10\,000\text{K}$ ，可使样品温度达到  $5500\sim 8000\text{K}$ 。火焰形状使样品发射限制在一个窄光源范围内，所以 ICP 具有较宽的动态范围。样品被吸入氩气等离子体火焰后，一般需经过溶解剂化、气化、原子化等步骤，最终发生激发或离子化。当各种原子回到较低能态时，发出的光撞击单色器或多色器，每种元素的线性光谱强度就可以在每一元素的特征波长处进行测量。

最常用的进样技术是将溶液吸入氩等离子体火焰中，因为火焰温度相当高，原子吸收光谱法中出现的许多问题

都不存在。然而，基体效应，比如样品溶液和标准品溶液的黏度存在明显差异，仍可能会产生影响。必要时，原子吸收光谱法采用的进样技术也可用于发射光谱法<sup>[8-13]</sup>。

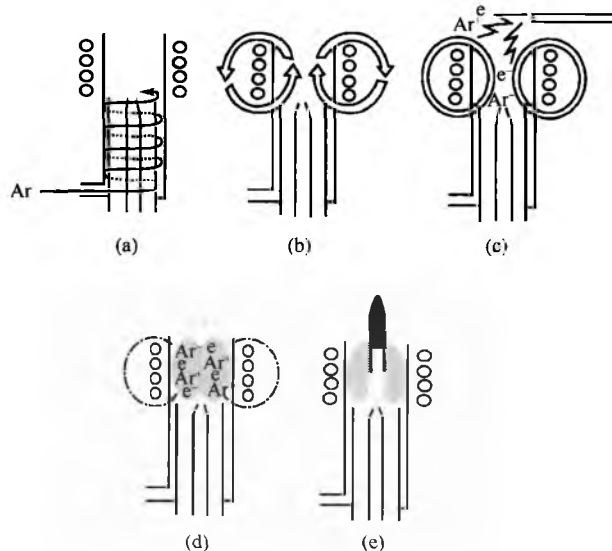


图 5 ICP 炬管和负载线圈的横截面图，描述点火过程：(a) 氩气流环绕进入炬管；(b) 反射功率施加于负载线圈上；(c) 氩气中火花产生自由电子；(d) 自由电子在反射场内加速，进一步离子化，形成等离子体；(e) 雾化器中形成的样品气溶胶流在等离子体中冲孔而入 (经 PE 公司许可)

## 方法选择

ICP 的最大优势是可以同时测定多种元素。如果样品中待测元素数量少于 4~6 个，选择原子吸收光谱法更加合适；如果待测元素数量超过 6 个，很明显 ICP 是最佳选择。然而，灵敏度和干扰等其他因素也应该予以考虑。ICP 的另一个重要应用就是 ICP-MS (质谱) 联用技术。这种联用

技术能够提供出色的灵敏度, 甚至还能分辨离子体或同位素。如前所述, 所有这些方法都是适用的, 选择最佳方法时应当同时考虑方法的优势和劣势。

## 前景

原子吸收光谱法的仪器已经发展得相当完善, 从相对简单的手动操作仪器, 到可与中央数据库相连的完全自动化操作系统。同时, 绝大多数样品都可以获得准确结果。这种方法的前景在于如何更好地解决问题, 而不是进一步推动仪器化。例如, FDA 最新发布了测定注射用营养制剂中铝含量的指导原则。

ICP 的作用在不久的将来将继续扩大, 特别是 ICP-MS 的发展。生物进程和疾病状态时金属的作用正逐渐被人们所认识, 且已有大量研究进行了报道。对于多价态元素, 可以使用 ICP-MS 测定生物进程中真正发挥作用的价态金属。理解了这方面的内容, 很有希望在未来取得重大突破。关于未来应用的其他信息见参考文献<sup>[14~17]</sup>。

## 参考文献

1. Beaty, R. D.; Kerber, J. D. Concepts, Instrumentation, and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry; Perkin Elmer; Minneapolis, KS, 1993.
2. Komaromy-Hiller, G. Flame, Flameless, and Plasma Spectroscopy. *Anal. Chem.* 1999, 71 (12), 338R—342R.
3. Lagalante, A. F. Atomic Absorption Spectroscopy. A Tutorial Review. *Appl. Spectrosc. Rev.* 1999, 34 (3), 173—189.
4. Hill, S. J.; Dawson, J. B.; Price, W. J.; Shuttler, I. L.; Smith, C. M. M.; Tyson, J. F. Advances in Atomic Absorption and Fluorescence Spectrometry and Related Techniques. *J. Anal. At. Spectrom.* 1999, 14 (8), 1245—1285.
5. Sturgeon, R. E. Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Environmental Challenges at the Ultra-trace Level—A Review *Spectrochim. Acta, Part B* 1997, 52B (9, 10), 1451—1457.
6. Harnly, J. M. The Future of Atomic Absorption Spectrometry; A Continuum Source with a Charge Coupled Array Detector. *J. Anal. At. Spectrom.* 1999, 14 (2), 137—146.
7. Boss, C. B.; Fredeen, K. J. Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, 2nd Ed.; Perkin Elmer; New York, 1999.
8. Suzuki, K. T. Hyphenated Techniques as Tools for Speciating Biological Metals: Metallothionein and Metalbinding Proteins. *Analysis* 1998, 26 (6), M57—M61.
9. Sutton, K. L.; Caruso, J. A. Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Chromatogr., A* 1999, 856, 243—258.
10. Horlick, G.; Montaser, A. Analytical Characteristics of ICPMS Induct. Coupled Plasma Mass Spectrom. 1998, 503—613.
11. Taylor, A.; Branch, S.; Halls, D. J.; Owen, L. M. W.; White, M. Atomic Spectrometry Update: Clinical and Biological Materials, Foods and Beverages. *J. Anal. At. Spectrom.* 1999, 14 (4), 717—781.
12. Pruszkowski, E.; Neubauer, K.; Thomas, R. An Overview of Clinical Applications by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *At. Spectrosc.* 1998, 19 (4), 111—115.
13. Lobinski, R.; Potin-Gautier, M. Metals and Biomolecules-Bioinorganic Analytical Chemistry. *Analysis* 1998, 26 (6), M21—M24.
14. Taylor, H. E.; Huff, R. A.; Montaser, A. Novel Applications of ICPMS Induct. Coupled Plasma Mass Spectrom. 1998, 681—807.
15. Welz, B. Speciation Analysis. The Future of Atomic Absorption Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 1998, 13 (5), 413—417.
16. Vanhaecke, F.; Moens, L. Recent Trends in Trace Element Determination and Speciation Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. Chem.* 1999, 364 (5), 440—451.
17. Durrant, S. F. Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Achievements, Problems, Prospects. *J. Anal. At. Spectrom.* 1999, 14 (9), 1385—1403.

(陈 阳 译)

## G

## 光谱分析技术：质谱法

Mike S. Lee

Milestone Development Services, Newtown, Pennsylvania, U. S. A.

## 引言

人们对内部和外包的药物研究和开发 (R&D) 所付出的开支大大增加, 这使得其对技术的依赖性更强。为了获得更多的研究成果, 加快开发周期, 新技术不断引入到药物开发中。新技术的应用使得药物的开发模式发生了基本变化。近来, 样品制造技术, 如高产量生物分子筛选和自动平行合成已经将瓶颈转移到样品分析技术中。

制药工业中分析技术目前的焦点着重于四个基本性能指标: 灵敏度、选择性、速度和高通量。质谱 (mass spectrometry, MS) 具有所有这些特点, 因此已经成为药物开发每个阶段有效的解决方案<sup>[1]</sup>。可能比质谱技术本身更加有效的方法是将质谱与样品制备、色谱分离和信息学联用的不同应用。总而言之, 质谱已经在制药工业中扮演着有增无减的重要角色, 成为痕量混合物分析的首选方法 (图 1)。

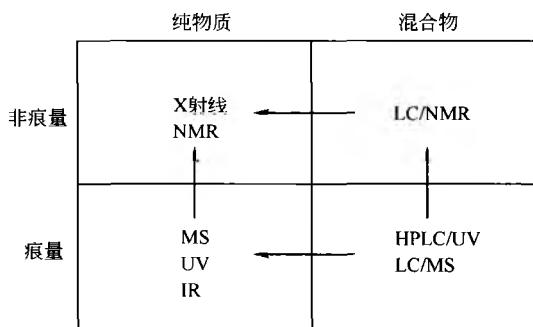


图 1 结构分析矩形图, 阐明了四种专有样品类型的首选分析方法: 非痕量/纯物质、非痕量/混合物、痕量/纯物质、痕量/混合物 (经 Milestone 开发部许可)

各种质谱模式已经在制药工业中得到广泛接受和应用。特定的质谱应用通常由进样技术定义。本文中突出的药物应用主要涉及两类进样技术: 动态的和静态的。动态进样是指 HPLC 与 MS 的在线联用。由此产生的 LC/MS 模式在药物分析中具有独特、有效的性能。电喷雾电离 (ESI)<sup>[2]</sup> 和大气压化学电离 (APCI)<sup>[3]</sup> 模式使用得最为广泛。静态进样技术主要使用基质辅助激光解吸电离 (MALDI)<sup>[4]</sup>。

质谱仪的发展<sup>[5]</sup> 和质谱在制药工业中的作用<sup>[1]</sup> 最近已有综述。本文着重于质谱技术在药物开发中的特殊应用。本文的目的是概述质谱应用, 阐明这项技术与药物开发的重要结合。目前质谱技术和应用的详细深入的概述可以从美国质谱协会关于质谱年会和相关课题 ([www.asms.org](http://www.asms.org)) 和生物分子资源研究协会 ([www.abrf.org](http://www.abrf.org)) 中获得。

## 基因组学

尽管质谱的作用有点局限在基因领域, 但是人们对它的使用和兴趣却在增长<sup>[6]</sup>。当然, 人类基因组计划 (Human Genome Project) 使人们广泛认识到测定基因变异乃当务之急。

基因组学是指研究遗传数据, 从而总结出个体基因遗传与医学或生物学中重要参数之间的关系。例如, 这些参数可能包括患者对特定药物的反应。了解个体药物反应的基因组学基础, 可以帮助我们理解药物反应中观察到的差异, 这些差异是由在药物吸收、分布、代谢或排泄等中测得的遗传学差异所产生的<sup>[7]</sup>。另外, 当一个特定疾病状态存在多个靶点时, 了解基因变异在靶点选择过程中亦有帮助。因此, 制药工业对测定病患群体中的基因变化非常感兴趣。

由于序列变异或多态性的存在, 没有两个人的基因是完全相同的。单一核苷酸多态性 (SNP) 是最常见的基因变异, 频率估计为每 500 个碱基对就有 1 个 SNP。由于 SNP 在基因中非常普遍, 因此可以作为与某一显型相连的标记, 为与特定药物间的相互作用提供全面测定。某一特定 SNP 的确认是建立 SNP 作为常规临床诊断标记的重要阶段。通过 MALDI-TOF MS 进行 SNP 的确认, 正显示为一种有价值的基因型工具<sup>[8,9]</sup>。MALDI-TOF MS 仪的示意图见图 2。

Stroh 等<sup>[10]</sup> 最近开展了一项研究, 对限制性片段长度多态性 (RFLP) 的 MALDI-TOF MS 的性能和荧光偏振 (FP) 进行了比较。该项研究包括分析 IL-1 $\beta$  基因的已知突变。具体步骤是采用标准 PCR 技术放大患者的 DNA 样本, 接着是引物扩大阶段, 即分离的后 PCR 引物在 SNP 位点附近直接杂交。产生的 MALDI-TOF MS 数据可对相对分子质量直接进行确证, 用于多态性快速分析。

了解 SNP 位点侧面的 DNA 序列, 可以优化选择后 PCR 引物大小、引物位置和双脱氧核苷酸。因此, 可以设计实验提取 SNP 的完整信息, 而与其所处状态无关。用于 SNP 基因型的新兴质谱方法能够实现高度自动化, 不需要荧光标记。另外, 选择各种长度的后 PCR 引物从而将质谱预定区域于特定的 SNP 能够获得多重 (multiplexing) 信息。

## 蛋白组学

蛋白组学是指在疾病成熟和发展过程中研究蛋白质的结构、功能、数量和相互作用等。广泛采用的蛋白组学分

析方法是联用一种用于蛋白质分离的二维凝胶电泳和一种用于蛋白质鉴别的质谱分析, 然后是数据库检索<sup>[11]</sup>。从凝胶中提取的胰蛋白酶解的多肽用 MALDI-TOF MS 和微柱或毛细管 LC 串联质谱 (MS/MS) 技术进行分析。MALDI-TOF MS 技术通常用于快速鉴定肽类片断和证明已知蛋白

质的存在。毫微级的毛细管 LC/MS/MS 技术 (使用 50~100  $\mu\text{m}$  直径柱, 流速为 20~500 nL/min) 用于进一步研究低达毫微摩尔水平的复杂蛋白质混合物。这些技术需要使用专用的 ESI 源 (图 3)。

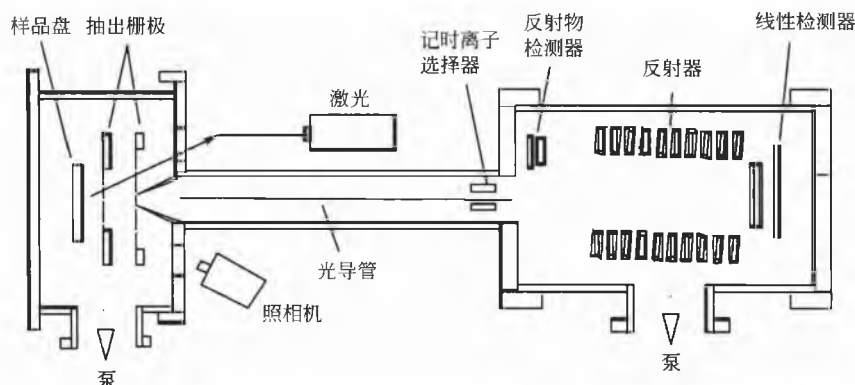


图2 MALDI-TOF MS 仪的示意图。通过一种含有能够吸收紫外光的小有机分子的基质制备 MALDI-TOF 样品。激光用来使离子从样品盘中释放出来, 通过抽出栅极施加加速电压使产生的离子进入飞行管内。所有离子以相同的动能离开光源, 经飞行管飞向离子反射器。根据质量较轻的离子飞行快于质量较重的离子进行分离。离子反射器用来校正相同质量离子间的微小动能差, 从而提高分辨率和质量准确度 (经 Applied Biosystems 公司许可)



图3 毫微范围毛细管 ESI 接口的示意图。这种专用的 LC/MS 接口在流速为 20~500 nL/min 范围内工作, 使用内径为 50~100  $\mu\text{m}$  的柱, 通常能提供低达毫微微摩尔水平的灵敏度。全自动的样品处理和制备程序 (脱盐和预富集), 加上能够提供高分离度和可变 nL 梯度流速的专用装置, 成为进行蛋白质高通量分析的唯一途径 (经 New Objective 公司许可)

MALDI-TOF MS 和毛细管 LC/MS/MS 的联用近来用于人尿中疾病状态标记的鉴别<sup>[12]</sup>。在这项研究中, 从肺气肿病人获得的尿蛋白在二维凝胶上分离, 选定点用胰蛋白酶消化, 用 MALDI-TOF 分析。使用一种名为蛋白质探测器的数据库进行检索, 确证作为人类  $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶 (A1AT) 的潜在肺气肿生物标记。相应 MALDI 谱图的 18 个肽中有 9 个的质量数符合 A1AT 预期的胰蛋白酶消化片断。

相同的胰蛋白酶消化蛋白质样品通过毛细管 LC/MS/MS 进行分析, 使用离子阱质谱仪, 然后用 SEQUEST 进行数据库检索。图 4 介绍了离子阱质谱仪的各部分组件。

高度自动化的数据依赖型 MS/MS 分析为与单一 LC/MS 中 A1AT 有关的 11 种胰蛋白酶肽提供了出色的序列范围。与 A1AT 序列 SVLGQLGITK 在质谱中对应的胰蛋白酶解肽的保留时间 ( $r_t$ ) 为 30.5 min。LC/MS 数据也提供了那些不匹配 MALDI 峰的序列信息。

检测低浓度的蛋白质和肽混合物使混合四极杆/直交式 TOF (QTOF) MS/MS 仪与微柱 LC 的联用日益增加<sup>[13]</sup>。图 5 为 QTOF 仪的示意图。这种 LC/MS 方法提供了约 0.1 质谱单位的分离度, 可用于复杂产物离子质谱的分析<sup>[14,15]</sup>。Chalmers 和 Gaskell 最近出版的书中强调了目前质谱仪在蛋白质分析中所面临的挑战<sup>[16]</sup>。

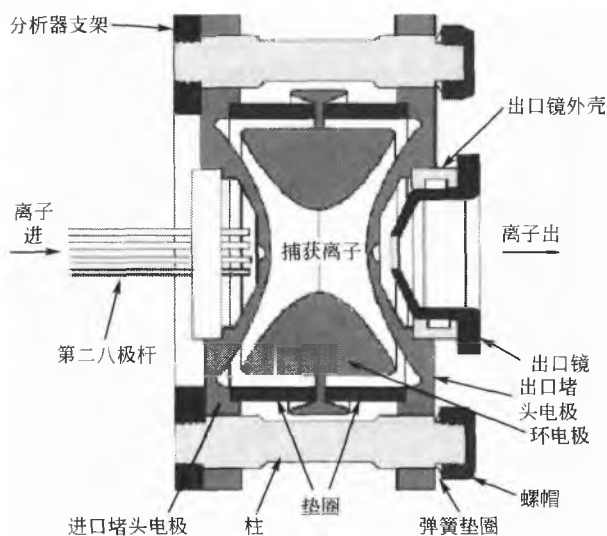


图4 离子阱质谱仪的示意图。该装置由两个末端电极（进口和出口）和一个环电极组成。离子阱MS是根据质量电荷比( $m/z$ )分离离子的。离子一旦进入离子阱MS，射频(rf)振幅增加，这样离子被顺序发射（随质量增加）和检测。这类MS提供了一种常规的、灵敏的检测器，可用于GC和LC。此外，该仪器还提供了一种适用于多级MS分析(MSn)的唯一模式（经Thermo-Finnigan公司许可）

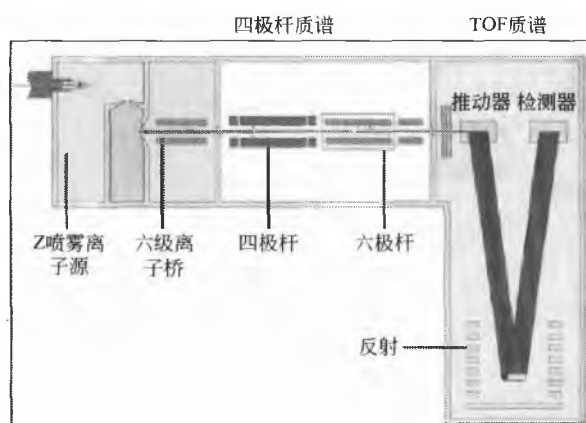


图5 QTOF MS仪的示意图。离子源区域形成的离子进入一种四极杆质量过滤器(图7)中，根据质荷比( $m/z$ )分离离子。选定的离子接着转移入TOF MS中作详细分析(具有高分离能力)(经Micromass公司许可)

## 天然产物解释复制(dereplication)

历史上，天然产物一直是新型先导药物化合物的优秀来源。在药物开发过程中通常对天然产物进行活性筛选，包括对从微生物发酵液、植物或海洋生物中得到的粗提取物进行测试。当检测到的活性超过一定水平时，活性成分得到分离和纯化，用于鉴别。这个过程非常耗时，需要测定活性成分的物理化学性质，已知化合物被确认一次（解释复制），以及放大新化合物的规模以作进一步的详细

研究。

使用在线ESI-LC/MS方法进行分析的策略在于通过将传统的馏分收集、样品制备和多组分分析整合到单一的步骤中，为天然产物的解释复制提供了一种完整模式。采用这种方式，无需复杂的纯化和化学分析，就可以筛选天然提取物。另外，由于技术的灵敏度和色谱分离都仍保留，所以只需很少的材料。

使用这种方法进行天然产物分析的关键是相对分子量测定。使用已有天然产物数据库的信息，包括生物活性化合物的信息，生成微生物的体态描述，它们的活性抗菌谱，提取和分离的方法以及物理数据（如相对分子质量、紫外最大吸收）。由于相对分子质量与结构专属性相关，因此相对分子质量是初始探索的最关键信息。该信息可以用于作出关键决定是否继续进行更加费时的新化合物分离步骤。在最近报道的研究中<sup>[17,18]</sup>，LC/MS用于提高灵敏度和分析速度。这些特征显著节约了劳动力。最近的一篇文献报道了基于联用LC/MS方法和高通量筛选技术，分析天然产物混合物的性质<sup>[19]</sup>。

由Ackermann等<sup>[17]</sup>创建的LC/MS系统的仪器结构包括：HPLC、UV检测器、馏分收集器、ESI—串联四极杆(MS/MS)和MALDI-TOF MS。经滤过的发酵物用丁醇或乙酸乙酯提取，用梯度C18反相HPLC洗脱分离。洗脱液在串联四极杆MS/MS仪（在完全扫描模式下以250~2000 amu/3s的速度扫描）和单波长UV检测器（254或230nm）之间以1:10的比例分流。在UV检测器后收集1min的馏分。在这些馏分中，20~50  $\mu$ L用于MALDI-TOF分析，其余部分浓缩后用于微生物试验。LC/UV色谱图与生物活性含量测定的柱形图进行比较，从而突出了具有活性的峰。获得的活性峰相对分子质量用于新型化合物的评估。

使用在线LC/MS和LC/MS/MS技术的相似方法最近已经用于天然产物的解释复制<sup>[20,21]</sup>。每年使用LC/MS系统进行体内活性筛选的天然产物提取物约1000个。解释复制的标准程序包括保留时间的比较，全扫描质谱（如相对分子质量信息），以及那些已知生物活性标准物质的MS/MS质谱图。因此，先前证实的成分可以很快消除，不需要费时的结构论证研究。节省的精力可以使研究人员把重点集中在新型化合物的化学性质上。接着新型化合物样品被注入离子阱质谱仪中，得到多级质谱分析(MSn)碎片图。

## 组合化学

最近综述<sup>[22,25]</sup>描述了覆盖范围从复杂分子库分析<sup>[26]</sup>到用于药物的发现和开发的开放通道模式的质谱方法<sup>[27]</sup>。高通量标准是每种应用的中心。

探索高产量组合库分析中的重要进展是Wang等描述的多重ESI接口<sup>[28]</sup>。这种新型ESI接口可使洗脱液从由4个HPLC柱组成的阵列中流出，然后单独进样依次使用四极杆质谱仪。这种接口的特点是具有一个步进电机和旋转盘。从HPLC柱流出的洗脱液连接到一种电喷雾针的并联



装置中,该装置与质谱仪进口孔同轴。每个喷嘴相对于循环阵列中的另一个喷嘴呈 90°角的圆形阵列。在步进电机装置的精确控制下,每个喷雾位置每秒可进样多次。

de Biasi 等提出了使用多重 LC/MS 接口和正交飞行时间 (TOF) 质谱的平行样品分析模式<sup>[29]</sup>。这种方法与适用于快速色谱方法学的 MS 模式相结合,可以获得一种具有高通量的多重 ESI 接口。这种系统的特点是具有与 TOF-MS 仪的固有离子化源直接相连的四通道多重电喷雾接口。由可变步进电机驱动的旋转孔允许从每个电喷雾针嘴中进行喷雾进样。数据记录与对应的喷雾是同步的。

随着用于先导探索的大型数据库制备日益常规化,分析技术所面临的难题主要集中在产量和质量上<sup>[30]</sup>。然而,生物测定要求通常需要纯化合物。因此,焦点则转移到应用在离散化合物库中的自动高产量纯化方法的使用上<sup>[31]</sup>。反相分析型和制备型 HPLC 模式与质谱技术相结合,对于平行合成库的高通量纯化非常重要。采用梯度洗脱、短柱、高流速的各种方法已经报道<sup>[32]</sup>。Zeng 等为四极杆系统提出了适用于数毫克级水平纯化的高度自动化 LC/MS 方法<sup>[33]</sup>。这些方法的特点是使用短柱,在超高流速下工作。制备柱在大于 70 mL/min 的流速下工作,这样就与短柱 (4.0 mL/min) 的线速度相匹配。在进行化合物库的分析型 LC/MS 分析时,对于色谱行为良好的化合物来说,可在 5 min 内完成。对于色谱峰形较差的化合物和 (或) 需要较高分离度的混合物来说,需要稍长的制备型 LC/MS 分析时间 (每个样品需要 8~10 min)。一旦检测到重建离子电流的特定  $m/z$  值与所需化合物相对应,馏分收集过程立即开始。这种设计允许每个馏分收集一种样品。因此,不需要大型馏分收集床和之后的纯化筛选收集。该系统的操作可以实现无人化和自动化,适用于大量化合物 (毫克量) 的日常纯化。

## 生物亲和力筛选

随着高度自动化平行合成技术整合到药物探索程序中,成百上千对应于特定生物靶点的化合物被筛选。一旦混合物中测定出活性物,必须对活性成分进行鉴定。最近的一项研究采用生物亲和力选择 LC/MS 方法进行混合物中活性成分的鉴定<sup>[34]</sup>。该方法的特点是将基于生物亲和力的 LC/MS 筛选方法整合到从混合物中分离和鉴定化合物。

化合物的混合物用靶蛋白孵化,与蛋白质结合的成分用体积排阻色谱 (SEC) 中的一种“旋转柱” (spin column) 进行选择。在这个实验中,未结合的化合物保留在柱中。结合的成分被洗脱后用 LC/MS 鉴定。通过解离结合的化合物,并与蛋白质进行二次平衡孵化可以提高专属性。这种方法优先选择亲和力更高的化合物,这使定量型 LC/MS 的响应增强。相对于结合较弱的成分,孵化、体积排阻和 LC/MS 的反复过程可使结合较强的成分得到富集。

在这项研究中,过氧化物酶增殖激活受体 (PPAR $\gamma$ ) 是抗糖尿病药物的靶点 (结构分子质量为 32 537 Da),用 10 个分子量为 283~587 单位的配体孵化。截取规格为 6000 Da 的旋转柱用于 SEC。保留的混合物成分用快速扩散色谱分析<sup>[35,36]</sup>,采用标准的全扫描 LC/MS 模式。这种分析程序考虑到蛋白质和配体的鉴定和定量,与孵化前的响应作对比。在反相色谱条件下被解离的配体-蛋白质复合物可作选择性检测。

这种分析方案可进行结合亲和力的快速测定,可在药物选择过程中作为筛选工具。建立电子数据表,用于计算成分的结合亲和力。在上述例子中,SEC 分离后进行两次孵化循环,使强结合体与弱结合体的分离增强。当在结合力较弱配体浓度较高的同一混合物中存在较低浓度的结合力较强配体时,基于 LC/MS 的方法提供了获取信息的唯一途径。此外,与合成去卷积程序相比,该方法更加有效,且不需要使用放射性配体。

组合化学开始为筛选混合物中对应于特定靶点的活性成分提出了巨大的挑战<sup>[37]</sup>。使用亲和力选择<sup>[38]</sup>、编码方法学<sup>[39~41]</sup>、脉冲超滤<sup>[42]</sup>和抗聚集法<sup>[43]</sup>的 MS 法已有报道。

近来,具有准确质量性能的 MS 模式已经用于组合库的筛选<sup>[44~47]</sup>。使用混合四极杆/正交式 TOF (QTOF)<sup>[44,45]</sup>和傅里叶变换离子回旋加速共振 (FTICR)<sup>[47]</sup>质谱,人们已经明确阐明了来自于少量物质的组合库成分的验证和鉴定。FTICR-MS 系统的示意图见图 6。准确同位素类型或者“同位素识别标志”,以及同量异位素化合物之间的唯一质量差异可以使用这两种 MS 模式获得。

## 开放系统

化学家现在通常使用开放式质谱系统来监测预期产物的反应混合物,优化反应条件,而以前常用薄层色谱 (TLC)。事实上,药物化学家只需要相对分子质量数据,且可以采用多种 MS 电离方法轻松获得这些信息。然而,在实际方法和程序中,信心是必不可少的。今天,在合成化学活性成分 (如药物探索) 的最初阶段,此时样品量有限,相对分子质量测定已经迅速成为优于 NMR 和 IR 的结构确证方法。

在 Pullen 等<sup>[48]</sup>提出的开放式 LC/MS 程序中,为了简单实现自动化和样品制备,样品从溶液中直接进样。化学家制备溶液状样品,浓度在推荐范围内,然后将样品导入系统中。在连续的队列自动进样过程中,任何时段都可以导入样品。自动进样瓶用于装载样品,自动进样器用于将溶液状样品直接转移至质谱仪中。系统使用标准方法分析阵列中的样品,根据预先设定的方案平衡光谱,并为化学家打印出光谱图。同时也开发了适用于初学者的故障安全程序和开关机时的仪器自维护程序。



图6 FTICR-MS 仪的示意图。这类 MS 具有一种离子回旋加速共振 (ICR) 分析池, 位于大型磁体的均匀区。进入 ICR 分析器的离子被磁场限制, 转移到具有特定频率的圆形轨道中, 频率对应于特定的质量电荷比 ( $m/z$ )。在 ICR 分析器上施加 (脉冲) 射频 (rf) 电位, 这样所有离子加速至更大的轨道半径内, 此时进行质量分析。脉冲停止后, 获得跃迁图像电流, 傅里叶转换将各个回旋频率分离。为了累加几个跃迁, 重复这一脉冲过程, 这样能够提高信噪比 (经 Bruker Daltonics 公司许可)

Taylor 等<sup>[49]</sup>进一步阐明了开放式 LC/MS 系统的价值, 关键作用。

涉及的药物分析应用广泛, 包括: ①合成中间体和靶化合物的性质; ②反应监测; ③反应优化; ④制备型 HPLC 馏分的分析; ⑤TLC 板斑点的分析。这些方法使 LC/MS 在结构分析中的使用增加。短分析时间和可靠的结构确证使 LC/MS 成为合成化学应用中结构确证的首选方法。

开放式 LC/MS 模式产生了新的通道尺寸和数据管理。为了进行新型先导化合物的分子量快速测定 (约 3min) 和定量分析, 人们设计出了适用于自动进样的直接暴露探头 (DEP)<sup>[50]</sup>。图 7 为进行相对分子质量测定的自动直接探头系统。用于数据处理和加工的通用软件包已经成为整合分析和信息的常用途径<sup>[51~53]</sup>。这些软件程序有效地实现了单个计算机和服务器与开放式质谱仪数据系统的联网操作。在这种配置中, 可为化学家产生、显示、处理并自动打印数据。程序将预期分子离子的模板与 SEI 和 APCI 所产生的实际离子进行比较, 从而快速分析合成产物、中间体、反应物、试剂和污染物。检测到的离子和已知离子一起生成列表, 用于预期产物的质量测定。

开放式 MS 系统为维持合成化合物的高通量确认提供了一种有效方法。这些系统将样品生成和活性成分分析有效地用实验室台式法整合在一起。分析仪器和电子通讯方面的进步在作为结构确证前沿工具的 MS 的出现和认可中也发挥了

## 体内药物筛选

最近, Allen 等使用单个四极杆仪器, 提出了 APCI-LC/MS 技术应用, 可用于药物探索中蛋白质结合和药物动力学快速测定<sup>[54]</sup>。“鸡尾酒”方法包括四种实验化合物和一种控制化合物, 口服剂量为 1mg/kg, 服药后 0.5、1、2、4、8h 时取血浆样。为了确保重现性, 每次与“鸡尾酒”同时测试控制化合物。这种方法使用实验室的两个人员, 在 3 个工作日内测试了 44 个化合物, 获得了即时系统 (AUC 和  $C_{max}$ ) 数据。

使用基于 LC 串联四极杆 MS/MS 的筛选方法, 可以进行定量生物分析测定, 这样允许大量的、化学性质不同的潜在候选药物进行快速可靠的分析。串联四极杆 MS/MS 仪见图 8。用于体内药理学筛选的唯一 LC/MS 系统的发展, 将分析减少到可管理的样品数量, 这样就得到一种评估新型先导化合物的低耗高效方法。根据相关分子的行为、标准操作规程 (SOP)、质谱仪的性能以及自动样品制备和数据分析程序的整合, 达到这类方法学的途径可能有多种。成功与否可能取决于以上参数, 同时也可能取决于特定筛选所设定的限度。

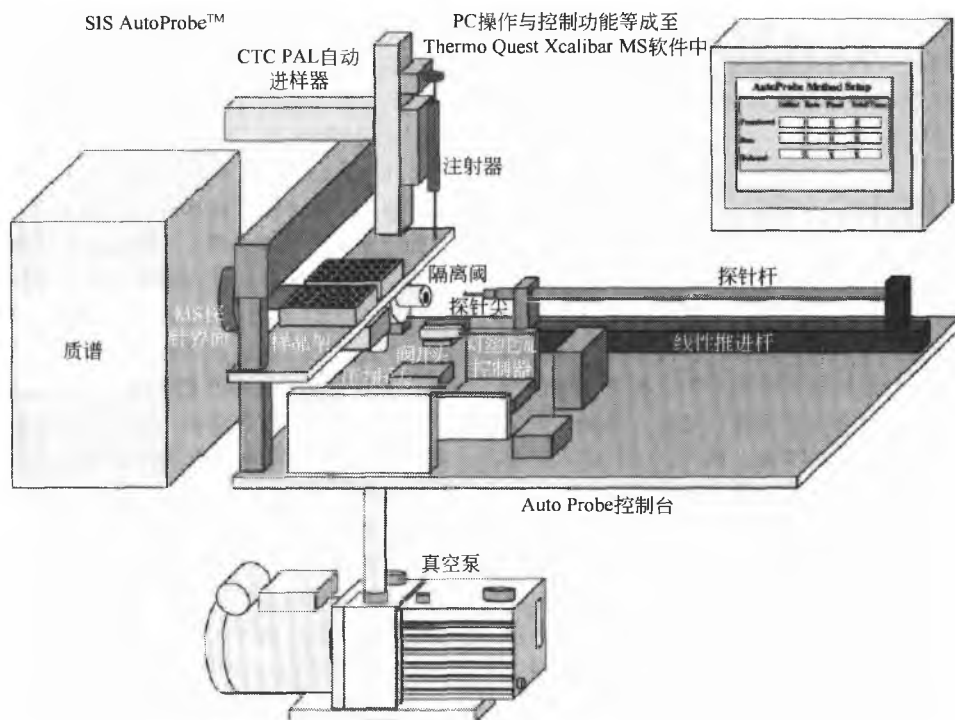


图7 用于相对分子量测定的自动直接探头系统示意图，配备离子阱MS。样品溶于合适的溶剂中，通过DEP线上的自动注射系统进样。探头通过一种自动隔离阀系统进入MS，温度按程序逐渐升高。样品分析后，探头从电离源中移除，加热至很高温度，以清洗DEP线，并制备下一个样品。这类基于开放式MS的整合应用为药物化学的要求，如反应监测和反应条件优化提供了常规的、无人化的支持（经Scientific Instrument Services公司许可）

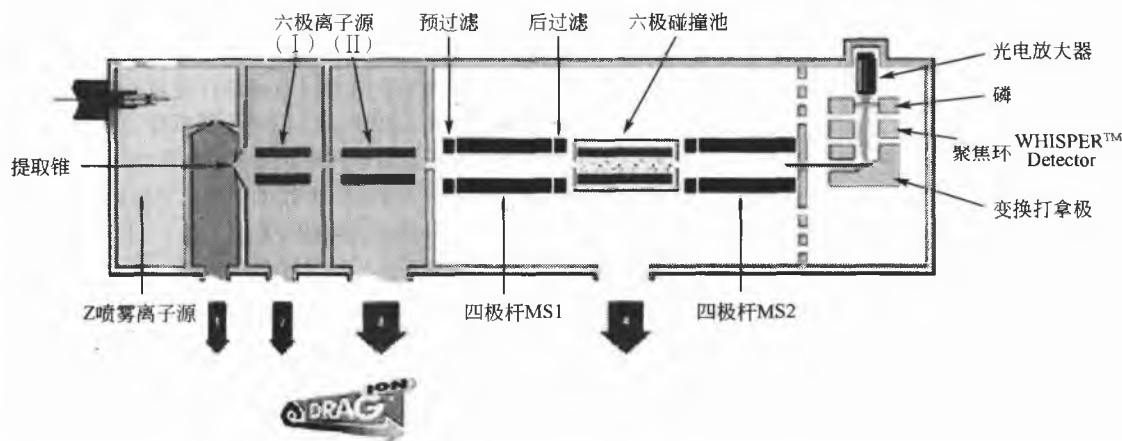


图8 串联四极杆MS/MS仪的示意图。串联四极杆MS/MS仪具有两个四极杆MS滤波器，MS1和MS2，被一种碰撞池分隔。每个四极杆MS滤波器含有四个圆柱状或双曲线形的棒。将直流电(DC)电位和射频(rf)电位独特组合后施加于每对棒上。保持rf/DC不变，通过改变电压值得到质谱图。各种扫描方式（如全扫描、产物离子、原始离子、中性丢失）可以进行定量和定性结构分析（经Micromass公司许可）

在同一动物体内的多种候选药物同时进行药动力学评估，称为“一体数药(n-in-one)”或者“盒式给药(cassette dosing)”。正如前面例子中所讨论到的，药物探索过程中的这种平行方法提高了生物分析的产量。为了研究混合物中更多的化合物，以及将样品制备整合到LC/MS/MS系统中以提高效率，Beaudry等<sup>[55]</sup>最近调查了这种方法学的范围。

采用平行方法研究的分析物数量已经扩展到63个，再加一个内标物质。MS/MS系统碰撞区域的扩大提高了灵敏度，降低了“记忆效应”，这样使分析物的数量可能增加。此外，进行血浆样品处理和在线SPE（固相萃取）的自动系统也整合到LC/MS/MS系统中。采用等度反相HPLC方法，每个样品的循环时间为4.5min。在线样品制备和快

速分析科学家提高了样品产量。这个方法在提取效率、线性和检测限 (LOD) 等方面具有优异的表现, 每天可以分析 320~960 个样品。这种方法的关键点在于提供高通量的 LC/MS 法, 从而在药物探索过程中评估大量的候选药物, 排除药动学较差的候选药物。

## 代谢稳定性筛选

采用单个四极杆仪器进行快速梯度洗脱 LC/MS, 已经报道用于高通量代谢稳定性筛选<sup>[56]</sup>。该方法以 HPLC 柱作为切换装置, 以脱盐并分析经人肝微粒体孵化的先导候选药物。选择的酶作用物的体内清除主要由 I 相氧化代谢控制, 而不是 II 相代谢, 或者为肾清除。这样, 得到的数据可以根据代谢稳定性分为四类: 高 ( $\geq 60\%$ ); 中等 ( $30\% \sim 59\%$ ); 低 ( $10\% \sim 29\%$ ); 极低 ( $<10\%$ )。

代谢物的快速结构确证是前述定量方法的有力补充。使用配有离子阱质谱的 LC/MS/MS 的自动代谢物鉴定方法已经得到应用<sup>[57]</sup>。在该项研究中, 自动化的 MSn 分析以及生物转换的预期策略提供了最大结构信息。自动化的数据依赖性扫描功能与单个色谱分析相结合, 用于生成代谢物的全扫描、MS/MS 以及 MSn 质谱。该方法具有独特性, 能够避免其他 MS/MS 结构 (如串联四极杆) 中所必需的多次进样 (2~4 次)。除能大大节约分析时间外, 获得的详细结构信息能够进行与每个代谢物结构相关的全面亚结构分析。这些自动化研究在药物探索过程中具有独特优势, 在候选药物的代谢易变点或“软点”方面提供了早期观点。这种知识在先导活性优化过程中是有用的, 能够引发致力于后活性的研究, 它涉及处理代谢导向结构修饰和毒性。

## 代谢物的构造和鉴定

基于 LC/MS 的技术在药物代谢物结构确证中的应用已经在药物开发中发挥了非常重要的作用。药物代谢物的早期鉴定为代谢和生物转换途径提供了有价值的探索。一旦代谢物被鉴定或证实, 就可以开始药物探索阶段中的代谢导向结构修饰, 便于以后开发中的候选药物选择。

使用四极杆 MS 仪的 LC/MS 和 LC/MS/MS 技术进行代谢物结构的鉴定, 由于能够分析复杂尿样、胆汁样和血浆样中的痕量混合物, 因此成为一种有效的方法。结构鉴定的关键是代谢物能够保留母体药物的大部分核心结构<sup>[58,59]</sup>。因此, 母体药物和对应的代谢物都会经历相似的开裂过程, 显示主要亚结构的质谱。

Kerns 等演示了 LC/MS 和 LC/MS/MS 标准方法在一种广泛使用的抗焦虑药丁螺环酮代谢物结构确证的临床前研究中的应用<sup>[60]</sup>。这个方法的成功与否取决于 LC/MS 接口的性能, 以及产生与药物和药物代谢物相对分子质量对应的足够离子的能力。足够分子离子的产生是相对分子质量确证的理想状态, 因为事实上所有离子电流都加合至分

子离子的加合物中 (也就是  $[M+H]^+$ ,  $[M+NH_3]^+$ )。

全扫描质谱通常包括大量的  $[M+H]^+$  离子信号, 检测到的碎片极少。获得的产物离子质谱揭示了与丁螺环酮分子的诊断亚结构有关的产物离子和中性丢失。为了帮助 MS/MS 结构确证, 丁螺环酮的总亚结构被分成构造基团 (profile groups)<sup>[61]</sup>。构造基团将特定的产物离子和中性丢失与特定丁螺环酮亚结构和修饰物的存在、不存在、取代和分子连接<sup>[62]</sup>直接关联。丁螺环酮的构造基团用对应于三种特定亚结构的缩语进行识别: azaspirone 癸烷二酮 (A)、丁基哌嗪 (B) 和嘧啶 (P)。取代的亚结构用下标 (s) 表示, 线段 (—) 表示亚结构的连接。因此, 丁螺环酮分子用 A-B-P 表示。A<sub>s</sub>-B-P 指含有 azaspirone 癸烷二酮、丁基哌嗪和嘧啶的代谢物结构, 在 aspirone 癸烷二酮亚结构中发生取代。构造基团的分类及其对应的数据库可用于进行受代谢影响的基本亚结构的快速目测识别。

代谢物的结构数据库能够轻松建立, 包含由鼠胆汁、尿液和肝 S9 样品中获得的代谢物结构、相对分子质量、UV 特征、RRT 和产物离子等信息。采用这种模式, Kerns 等报道了丁螺环酮代谢物的主要构造基团, A<sub>s</sub>-B-P、A-B-P<sub>s</sub> 和 A<sub>s</sub>-B-P<sub>s</sub>。这些构造基团表明, 在每个亚结构中, azaspirone 癸烷二酮和嘧啶作为代谢活性进攻点, 且存在多个取代点。

## 杂质的构造和鉴定

合成杂质在活性物过程研究和安全评估中特别需要考虑。通常, 杂质是放大过程中的合成副产物或者起始原料。杂质是化学过程的全面指示剂, 对总体质量进行诊断。合成化学家使用该信息对合成的优化进行指导。杂质鉴定和相对量的相关知识可以用于诊断反应过程, 这样试剂和反应条件的改变能够提高产物收率和质量。

随着进入临床前开发的新型先导候选药物数量的增加, 需要大量资源对杂质进行鉴定。基于 LC/MS 的方法为杂质的快速分析提供了整合样品纯化和结构分析程序。在泰素®的临床前开发过程中这一优势得到体现<sup>[18]</sup>。LC/MS 在短叶红豆杉和生物质提取物和中间体中含有的杂质鉴定中发挥着重要作用。因为天然药物通常具有不同的结构类似物, 所以测定在纯化过程中带入的、最终成为杂质的类似物非常重要。这项任务是药物开发早期所面临的唯一挑战, 因为样品具有高度复杂的性质。

Kerns 和同伴们阐述了使用四极杆仪, 联合 LC/MS 和 LC/MS/MS 技术进行结构确证的策略, 用于快速、灵敏、高通量的杂质分析<sup>[18]</sup>。这种方法将样品制备、分离、分析和数据管理等传统步骤整合到单一的仪器方法之中。获得的多元数据包括保留时间、分子量、UV 和亚结构信息。为每个候选药物建立结构数据库, 用于新样品中同种杂质的快速鉴定。在以候选药物为结构模板的基础上, 使用标准方法推荐结构, 确保整个临床前开发过程中结果比较的一致性。

几乎所有杂质都含有紫杉醇核心亚结构特征, 表现为特征产物离子的  $m/z$  509, 和由于修饰而产生的变化。这些紫杉醇类药物中许多都含有与紫杉醇相似的侧链, 侧链的末端酰氨基可以变化。产物离子指示特征亚结构的值与紫杉醇 ( $m/z$  286) 的特征侧链离子不同, 特定的亚结构数值用于鉴定末端酰氨基的变化。与紫杉醇亚结构模板的比较表明了侧链亚结构中结构差异超出了酰氨基位置。

当化学过程研究中发现新的杂质时, 保留时间和相对分子质量信息与数据库进行比较, 从而实现快速鉴定。这种方法与用于天然产物解析复制的程序相似。如果化合物在结构数据库中不存在, 可以执行对应的 LC/MS/MS 分析, 获得详细的亚结构信息和新的结构建议。

标准的反相 HPLC 法可用于与候选药物有关的所有样品, 从而简化了费时的方法开发和方法优化过程。标准反

相方法的循环时间通常为 20~30min, 提供大量化合物的信息。标准方法的整合策略可使用自动进样程序和用于数据分析的标准系统软件。

在泰素®的开发过程中, 90 种紫杉醇类药物杂质得到快速鉴定, 加入到结构数据库中。通常可以获得低达 100ng 水平 (进样量) 杂质的 MS/MS 信息, 每个样品需要 2~3h 的分析时间。这些化合物根据构造基团的术语进行结构分类。这种基于 LC/MS 的方法比先前使用的基于放大、分离、分馏和单个结构分析的分析方法快得多。用于样品跟踪、解释和数据储存的软件工具使得杂质、降解物和代谢物的结构框定更加方便<sup>[63]</sup>。处理样品制备、实时分析决策、数据库、结果提供/显示 (图 9) 和碎片预测的关键药物分析单元现在都高度整合在一起。

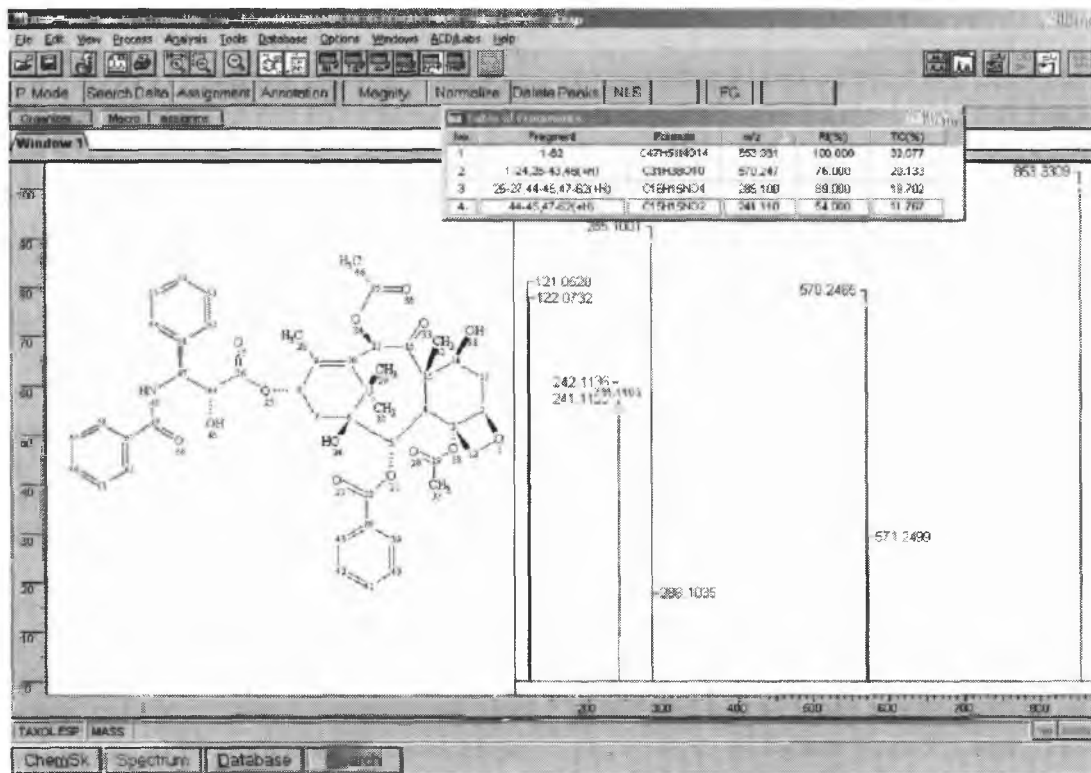


图 9 使用套索工具显示分子碎片。套索工具用于鉴定某个特定碎片, 如果质谱中存在一个对应于其质量的信号, 碎片被加亮显示, 对应的指认被添加至指认表中 (经 Advanced Chemistry Development 公司许可)

## 降解物的构造和鉴定

在药物的开发过程中, 原料药和药物制剂都要在各种强破坏条件下进行研究, 如温度、湿度、酸度、碱度、氧化和光照等。Qin 等报道了使用这些可能引起降解的强破坏条件<sup>[64]</sup>。得到的样品可以用于分析监测方法的验证, 作为将来剂型和包装研究的预测工具。

研究降解形成的传统方法与代谢物和杂质分析相似, 包括费时的放大和制备步骤。同样, 药剂分析的这一领域

也经历了涉及快速药物开发周期有关的问题。最近, Rourick 和同伴们报道了前活性方法, 在临床前开发过程中使用四极杆 LC/MS 方法获得降解物信息<sup>[65]</sup>。对应的结构信息为决定何者进行下一步临床研究提供了方向。候选药物降解物的早期结构信息为合成修饰提供了唯一的可能性, 从而使降解最小化。结构信息还可以便于安排过程研究、制剂开发和安全评估中的临床前药物开发计划。

Rourick 等报道的杂质和降解物鉴定策略随着采用 LC/MS 和 LC/MS/MS 分析安排使先导候选药物处于各种开发条件之下。由对应结果创建结构数据库, 用于揭示药物结

## G

构中的不稳定区域, 确定哪个候选药物或者类似同系物最适合进行下一步的开发。高容量和高通量是必需的, 这样许多先导候选药物都可以被评估。对大量各类化合物的方法适用性是令人满意的。一旦候选药物进入临床研究和生产阶段, 结构数据库可用于这些开发过程中样品产生的杂质和降解物快速鉴定。

该方法将候选药物暴露于施加的降解条件下(如酸、碱、热和湿度), 作为预示构造(predictive profile)。联用 LC/MS 和 LC/MS/MS, 可以提供快速、灵敏和高通量的结构确证。标准方法适用于 80% 化合物的应用。为了达到结构推导的目的, 获得各类结构数据(如保留时间、相对分子质量、MS/MS), 未知化合物以候选药物为结构模板进行结构推导。LC/MS 分析为结构确证提供保留时间和相对分子质量数据, 而 LC/MS/MS 提供详细的亚结构信息。候选药物在药物的生产、储存和生理条件下放置, 这些条件可能存在于药物的整个周期。

使用这种方法, 头孢羟氨苄, 一种口服有效的半合成头孢菌素类抗生素的 10 个降解物能够在两天研究内推导结构。使用标准的 LC/MS 方法, 可以在整个开发过程中保持样品之间的一致性, 可构建和使用结构数据库进行研发过程中杂质和降解物的快速鉴定。反相 HPLC 条件为每个化合物提供了一种一般的极性测定方法, 可用于相关化合物之间亚结构差异的解释。由于质谱仪具有质量分离能力, 同时洗脱或者未分离成分的色谱分离是不需要的。足量的质子化分子离子,  $[M+H]^+$ , 提供了可靠的相对分子质量信息, 产物离子质谱则为每个降解物生成了有价值的亚结构信息。头孢羟氨苄的产物离子光谱可作为解释的模板; 特定的产物离子和中性丢失可与未知降解物的质谱进行比较。每个质谱共同的产物离子提供了亚结构证据, 不随降解条件变化, 差异则表明了结构的变化。

## 定量生物分析-选择离子监测

生物液中靶向成分的定量分析是临床开发中的主要要求。1991 年, Fouda 等<sup>[66]</sup>首先在单个四级杆仪器上使用 APCI-LC/MS 定量测定人血清中肾素抑制剂 CP-80794。由于药理学作用低于 200 pg/mL, 因此在低至皮克每毫升范围内的定量分析是需要的, 以监测药物的药动学和药代学特征。同时, CP-80794 的分子结构中缺少传统 HPLC 法 UV 检测所需的有效生色团。此外, 低挥发性和热不稳定性排除了使用 GC/MS 方法分析的可能性。

临床开发中的定量 LC/MS 分析通常包括四个步骤: 样品制备、标准校正、样品分析和数据管理。在 Fouda 和同伴们建立的方法中, 人血清样品用液-液萃取方法制备。标准校正设置含有范围 0.05~10 ng/mL 的 11 个浓度的 CP-80794 的人血清样品(每个浓度重复 6 次)。LC/MS 分析采用 SIM 模式, 监测与药物( $m/z$  619)和内标物( $m/z$  633)对应的分子离子  $[M-H]^-$ 。在这种特定的 LC/MS 应用中, 负离子模式对这类化合物高度灵敏。样品通过 HPLC

自动进样器装载, 4min 间隔内进样 80  $\mu$ L。药物和内标物的洗脱时间分别为 3.1min 和 3.4min。

同时, 这种应用为四级杆 LC/MS 在制药工业中的使用提供了一种有力的基准, 为 MS 的应用在临床开发中的巨大发展铺平了道路。这种特定的含量测定方法成功地应用于某些临床研究中, 并取得了灵敏、可靠的结果。这种性能通过超过 4000 种临床样品使之成为基准, 使 MS 在定量生物分析中得到了广泛应用<sup>[67~71]</sup>。

## 定量生物分析-选择性反应监测

使用选择性反应监测(SRM)方法进行定量生物分析, 说明质谱分析范围扩大了。最近, Dear 等报道了采用配备串列四级杆 MS/MS 仪的 SRM 方法, 定量分析人血浆中的氯氮平, 一种抗精神病药物<sup>[72]</sup>。氯氮平在大鼠和狗的临床前开发研究使用带荧光检测器(FLD)的 HPLC 法。使用这种方法, 获得的最佳定量限(LOQ)为 1 ng/mL。当化合物进入开发的临床阶段时, 需要更灵敏的分析方法, 以获得药物安全评估研究中所需的快速代谢信息。结果, 人们开发了一种标准的 LC/MS/MS 方法, 进行氯氮平(I)和人血浆中四种代谢物(II~V)的定量分析。

采用的 LC/MS/MS 策略的部署与前述的蛋白质、天然产物、代谢物和杂质鉴定方法相似。生成足量分子离子体, 且碎片极少的电离技术是令人满意的。获得产物离子质谱, 以生成分子的亚结构模板。从质谱中能够鉴定出大量的结构唯一的转换(分子离子 $\rightarrow$ 产物离子), 可用于对应的 SRM 定量实验中。与用于复杂混合物分析的全扫描或 SIM 实验相比, SRM 实验具有高度的选择性和更出色的定量限<sup>[73,74]</sup>。MS/MS 的选择性降低了每种成分达到完全色谱分离的要求。因此, 用于定量的 LC/MS/MS 实验通常大大缩短了分析周期, 从而提供了高样品产量。

据报道, 这种方法在定量限范围内(0.05~10 ng/mL)的日间和日内含量精密度(%CV)低于 8%。所有加入控制浓度范围内的准确度(%偏差)不超过  $\pm 4\%$ 。同一天内周转 100 多个样品是可能的, 可支持 1600 个样品的急性剂量耐受差异和药动学研究。

## 质量控制中的肽图比对

质量控制需要一系列详细设计的分析和准则。在药物开发的生产阶段, 质量控制的目的是确保生产出安全、优质的药物产品。这些测定对药品的生产者和管理者(如 FDA)都有帮助。这样, 在日常工作中应认真监测准则和程序的忠实性。当生产过程中存在任何不确定因素时, 比对程序, 分析数据, 以决定生产的特定阶段, 并开始检查。因此, 药品生产商和管理机构的责任就是确定过程何时和如何发生偏离。这种有效直接的方式对双方尤其是消费者十分有帮助。因此, 提供这种信息的能力大大依赖于生产商控制过程的能力。

Chang 等报道了在生产质量控制环境中使用 LC/MS 用于生物制品<sup>[75]</sup>。该方法包括 3 个步骤。首先, 指明蛋白质生长素的氨基酸序列中预计的分裂点(以胰蛋白酶为例)。这种“胰蛋白图”可以作为预期肽片断的模板; 其次, 建立使用色谱柱的分析方法, 以及实现最佳分离度和重现性的条件。优化色谱分析、消化和 LC/MS 性能是有可能的。最后, 根据氨基酸序列、峰数量和  $[M+H]^+$ , 得到最终的 LC/MS 轮廓数据。在该种模式中, 还能增加其他特征, 如相对保留时间。

## 质量控制中的杂质鉴定

管理部门严格考察那些可能来自于医疗设备和药物的可浸出物(如增塑剂、杂质)。药物或医疗设备公司的责任是鉴定这些可浸出物, 并进行足够的毒性试验。为了在优质药物产品的生产过程中有效的控制毒性可浸出物, 必须建立和验证监测方法。

因此, 医疗设备和药品的原料必须进行可浸出成分的测试。一旦发现已知毒性的化合物, 必须对其毒性进行评估, 再根据 FDA 的要求使用验证过的方法监测毒性水平。这种鉴定程序采用基于分馏和单个成分分析的传统方法, 可能是一种费时的过程。

Tiller 等演示了一种在线 LC/UV/MS 和 LC/MS/MS 的分析策略, 以快速获得来自于药品传输设备中的可浸出物的结构信息<sup>[76]</sup>。与蛋白质应用相似, 这种分析策略使用“数据依赖型”分析, 其中质谱仪首先使用全扫描技术获得分子离子, 实时作出关于必须获得的 MS/MS 产物离子质

谱的决定。使用这种方式, 在单个 HPLC 运行过程中, 能够同时获得许多成分的相对分子质量和亚结构信息。

从 ESI-LC/MS 色谱中能够轻松观察到许多化合物, 几种聚酯可浸出物被鉴别出来。ESI LC/MS 色谱揭示了 15 种成分, 与之相比, UV 色谱的 220nm 处可观察到 3 种成分。这种差异表明当分析物不含有强烈 UV 吸收的亚结构(如芳香基)时, ESI-LC/MS 能够提供一种更通用的检测。基于 MS 的方法被证明是高效的, 因为通过全扫描和产物离子实验, 能够分别获得样品成分的分子量和亚结构信息。

## 结论和未来前景

由于空前大量的样品需要(如痕量混合物分析)和商业压力(如更快的研发时间表), MS 在制药工业中的理解 and 应用飞速成长。如今, MS 是现代药物实验室中的必要组成部分, 也是传统分析方法的重要补充。

MS 在定性和定量中的高灵敏度分析作用将不断加强。人们已经开始想象新型的药物相关模式和系统, 拓宽当前方法, 并创造低流量、微型的模式<sup>[77~79]</sup>。以 MS 为特征的整合方法不断发展, 在药物分析中引起了极大的关注。例如, 以 NMR/MS 为特征的整合系统已经应用于 LC/NMR/MS<sup>[80,81]</sup> 和 MS/NMR<sup>[82]</sup> 中。LC/NMR/MS 系统的示意图见图 10。在这种配置中, NMR 用于提供结构和立体化学信息<sup>[80,81]</sup>或证实结合/相互作用<sup>[82]</sup>, 而 MS 则用于提供分子量信息。探究作用机理的新挑战将引起 MS 在更广应用中的需求, 也将促进样品制备、色谱、信息管理新技术的开发。

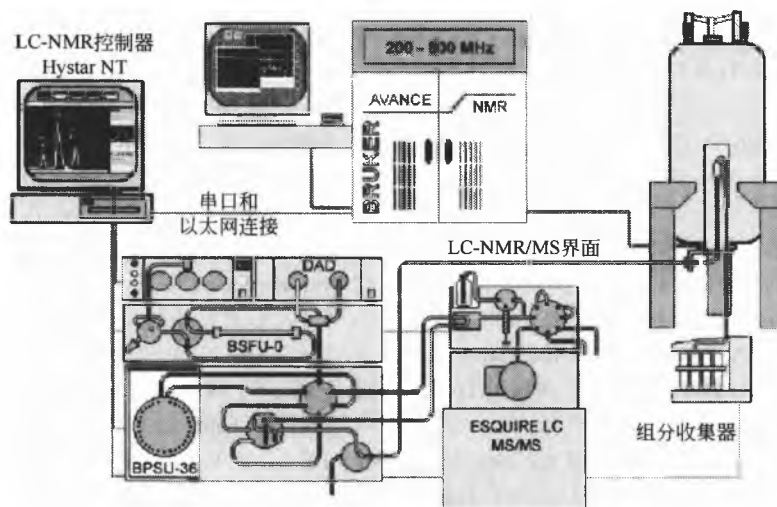


图 10 LC/NMR/MS 系统的示意图。在这种结构中, NMR 用于提供结构、立体化学或配体结合信息, 而 MS 用于提供分子质量信息(经 Bruker Daltonics 公司许可)

## 参考文献

1. Lee, M. S.; Kerns, E. H. Mass Spectrom. Rev. 1999, 18, 187—279.
2. Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. Science 1989, 246, 64—71.
3. Bruins, A. P.; Covey, T. R.; Henion, J. D. Anal. Chem. 1987, 59, 2642—2646.



4. Hillenkamp, F.; Karas, M.; Beavis, R. C.; Chait, B. T. *Anal. Chem.* 1991, 63, 1193A-1203A.
5. Burlingame, A. L.; Boyd, R. K.; Gaskell, S. J. *Anal. Chem.* 1998, 70, 647R-716R.
6. Kelleher, N. L. *Chem. Biol.* 2000, 7, R37-R45.
7. Wolf, C. R.; Smith, G. *Pharmacogenetics. Br. Medical Bull.* 1999, 55, 366-386.
8. Ross, P.; Hall, L.; Smirnov, I.; Haff, L. *Nat. Biotechnol.* 1998, 18, 1347-1351.
9. Haff, L. A.; Smirnov, I. P. *Genome Res.* 1997, 7, 378-388.
10. Pezzullo, L. II.; Hall, S. K.; Affourtit, J. P.; Seymour, A. B.; Stroh, J. G. *Proceedings of the 48th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Long Beach California, 2000; 1552.*
11. Yates, J. R. *J. Mass Spectrom.* 1998, 33, 1-19.
12. Gale, B. L.; Bleibaum, J. L.; MacKenzie, R. T.; Martin, R. L.; Straub, K. M. *Proceedings 48th ASMS Conference Mass Spectrometry and Allied Topics, Long Beach, California, 2000; 62.*
13. Morris, H. R.; Paxton, T.; Dell, A.; Langhorne, J.; Berg, M.; Bordoli, R. S.; Hoyes, J.; Bateman, R. H. *J. Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1996, 10, 889-896.
14. Stevenson, T. I.; Loo, J. A. *Proceedings of the 47th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Dallas, Texas, 1999; 215.*
15. Buko, A.; Tang, Q.; Trevillyan, J.; Chiou, G. *Proceedings of the 47th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Dallas, Texas, 1999; 248.*
16. Chalmers, M. J.; Gaskell, S. J. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2000, 11, 384-390.
17. Ackermann, B. L.; Regg, B. T.; Colombo, L.; Stella, S.; Coutant, J. E. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1996, 7, 1227-1237.
18. Kerns, E. H.; Volk, K. J.; Hill, S. E.; Lee, M. S. *J. Nat. Prod.* 1994, 57, 1391-1403.
19. Strege, M. A. *J. Chromatogr. B* 1999, 725, 67-78.
20. Gilbert, J. R.; Lewer, P. *Proceedings of the 46th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Orlando, Florida, 1998; 21.*
21. Janota, K.; Carter, G. T. *Proceedings of the 46th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Orlando, Florida, 1998; 557.*
22. Burdick, D. J.; Stults, J. T. *Methods Enzymol.* 1997, 289, 499-519.
23. Fitch, W. L. *Mol. Divers.* 1998-99, 4, 39-45.
24. Süßmuth, R. D.; Jung, G. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 1999, 725, 49-65.
25. Swali, V.; Langley, G. J.; Bradley, M. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1999, 3, 337-341.
26. Dunayevskiy, Y.; Vouros, P.; Carell, T.; Wintner, E. A.; Rebek, J., Jr. *Anal. Chem.* 1995, 67, 2906-2915.
27. Cepa, S.; Searle, P. *Proceedings of the 46th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Orlando, Florida, 1998; 283.*
28. Wang, T.; Cohen, J.; Kassel, D. B.; Zeng, L. *Comb. Chem. High Throughput Screen* 1999, 2, 327-334.
29. de Biasi, V.; Haskins, N.; Organ, A.; Bateman, R.; Giles, K.; Jarvis, S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1999, 13, 1165-1168.
30. Van Hijfte, L.; Marciniak, G.; Froloff, N. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 1999, 725, 3-15.
31. Weller, H. N. *Mol. Divers.* 1998-99, 4, 47-52.
32. Weller, H. N.; Young, M. G.; Michalczyk, S. J.; Reitnauer, G. H.; Cooley, R. S.; Rahn, P. C.; Loyd, D. J.; Fiore, D.; Fischman, S. J. *Mol. Divers.* 1997, 3, 61-70.
33. Zeng, L.; Wang, X.; Wang, T.; Kassel, D. B. *Comb. Chem. High Throughput Screen* 1998, 1, 101-111.
34. Davis, R. G.; Anderegg, R. J.; Blanchard, S. G. *Tetrahedron* 1999, 55, 1653-1667.
35. Regnier, F. E. *Nature* 1991, 350, 634-635.
36. Afeyan, N. B.; Fulton, S. P.; Regnier, F. E. *J. Chromatogr.* 1991, 544, 267-279.
37. Schriemer, D. C.; Hindsgaul, O. *Comb. Chem. High Throughput Screen* 1998, 1, 155-170.
38. Kaur, S.; McGuire, L.; Tang, D.; Dollinger, G.; Huebner, V. *J. Prot. Chem.* 1997, 16, 505-511.
39. Geysen, H. M.; Wagner, C. D.; Bodnar, W. M.; Markworth, C. J.; Parke, G. J.; Schoenen, F. J.; Wagner, D. S.; Kinder, D. S. *Chem. Biol.* 1996, 3, 679-688.
40. Hughes, I. J. *Med. Chem.* 1998, 41, 3804-3811.
41. Wagner, D. S.; Markworth, C. J.; Wagner, C. D.; Schoenen, F. J.; Rewerts, C. E.; Kay, B. K.; Geysen, H. M. *Comb. Chem. High Throughput Screen* 1998, 1, 143-153.
42. van Breeman, R. B.; Huang, C. -R.; Nikolic, D.; Woodbury, C. P.; Zhao, Y. -Z.; Venton, D. L. *Anal. Chem.* 1997, 69, 2159-2164.
43. Park, S.; Wana, L.; Johnson, M. E.; Venton, D. L. *J. Comb. Chem.* 2000, 2, 314-317.
44. Blom, K. F.; Combs, A. P.; Rockwell, A. L.; Oldenburg, K. R.; Zhang, J. H.; Chen, T. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1998, 12, 1192-1198.
45. Lane, S. J.; Pipe, A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1999, 13, 798-814.
46. Fang, A. S.; Vouros, P.; Stacey, C. C.; Kruppa, G. H.; Laukien, F. H.; Wintner, E. A.; Carell, T.; Rebek, J., Jr. *Comb. Chem. High Throughput Screen* 1998, 1, 23-33.



47. Speir, J. P.; Perkins, G.; Berg, C.; Pullen, F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2000, 14, 1937–1942.
48. Pullen, F. S.; Kerkins, G. L.; Burton, K. I.; Ware, R. S.; Teague, M. S.; Kiplinger, J. P. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1995, 6, 394–399.
49. Taylor, L. C. E.; Johnson, R. L.; Raso, R. J. *Am. Soc. Mass Spectrom.* 1995, 6, 387–393.
50. Scientific Instrument Services. AutoProbe™ Application Note; Ringoes, New Jersey, 2000.
51. Whitney, J. L.; Kerns, E. H.; Rourick, R. A.; Hail, M. E.; Volk, K. J.; Fink, S. W.; Lee, M. S. *Pharm. Tech.* 1998, May, 76–82.
52. Tong, H.; Bell, D.; Keiko, T.; Siegel, M. M. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1999, 10, 1174–1187.
53. Richmond, R.; Gorlach, E.; Seifert, J. M. *J. Chromatogr. A* 1999, 835, 29–39.
54. Allen, M. C.; Shah, T. S.; Day, W. W. *Pharm. Res.* 1998, 15, 93–97.
55. Beaudry, F.; Yves Le Blanc, J. C.; Coutu, M.; Brown, N. K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1998, 12, 1216–1222.
56. Ackermann B. L.; Ruterbories K. J.; Hanssen B. R.; Lindstrom, T. D. *Proceedings of the 46th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Orlando, Florida, 1998; 16.
57. Lopez, L. L.; Yu, X.; Cui, D.; Davis, M. R. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1998, 12, 1756–1760.
58. Perchalski, R. J.; Yost, R. A.; Wilder, B. J. *Anal. Chem.* 1982, 54, 1466–1471.
59. Lee, M. S.; Yost, R. A.; Perchalski, R. J. *Annu. Rep. Med. Chem.* 1986, 21, 313–321.
60. Kerns, E. H.; Rourick, R. A.; Volk, K. J.; Lee, M. S. *J. Chromatogr. B* 1997, 698, 133–145.
61. Kerns, E. H.; Volk, K. J.; Hill, S. E.; Lee, M. S. *J. Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1995, 9, 1539–1545.
62. Lee, M. S.; Klotz, S. E.; Kerns, E. H.; Volk, K. J.; Leet, J. E.; Schroeder, D. R.; Rosenberg, I. E. *J. Mass Spectrom.* 1996, 31, 1253–1260.
63. Williams, A.; Lee, M. S.; Lashin, V. *Spectroscopy* 2001, 16, 38–49.
64. Qin, X. Z.; Ip, D. P.; Chang, K. H.; Dradransky, P. M.; Brooks, M. A.; Sakuma, T. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1994, 12, 221–233.
65. Rourick, R. A.; Volk, K. J.; Kerns, E. K.; Lee, M. S. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14, 1743–1752.
66. Fouda, H.; Nocerini, M.; Schneider, R.; Gedutis, C. J. *Am. Soc. Mass Spectrom.* 1991, 2, 164–167.
67. Wang-Iverson, D.; Arnold, M. E.; Jemal, M.; Cohen, A. I. *Biol. Mass Spectrom.* 1992, 21, 189–194.
68. Ayrton, J.; Dear, G. J.; Leavens, W. J.; Mallett, D. N.; Plumb, R. S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1997, 11, 1953–1958.
69. Kaye, B.; Herron, W. J.; Macrae, P. V.; Robinson, S.; Stopher, D. A.; Venn, R. F.; Wild, W. *Anal. Chem.* 1996, 68, 1658–1660.
70. Olah, T. V.; McLoughlin, D. A.; Gilbert, J. D. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1997, 11, 17–23.
71. Ayrton, J.; Plumb, R.; Leavens, W. J.; Mallett, D.; Dickins, M.; Dear, G. J. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1998, 12, 217–224.
72. Dear, G. J.; Fraser, T. J.; Patel, D. K.; Long, J.; Pleasance, S. J. *Chromatogr. A* 1998, 794, 27–36.
73. Johnson, J. V.; Yost, R. A. *Anal. Chem.* 1985, 57, 758A–768A.
74. Kusmierz, J. J.; Sumrada, R.; Desiderio, D. M. *Anal. Chem.* 1990, 62, 2395–2400.
75. Chang, J. P.; Kiehl, D. E.; Kennington, A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1997, 11, 1266–1270.
76. Tiller, P. R.; El Fallah, Z.; Wilson, V.; Juysman, J.; Patel, D. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1997a, 11, 1570–1574.
77. Schultz, G. A.; Corso, T. N.; Prosser, S. J.; Zhang, S. *Anal. Chem.* 2000, 72, 4058–4063.
78. Li, J.; Wang, C.; Kelly, J. F.; Harrison, D. J.; Thibault, P. *Electrophoresis* 2000, 21, 198–210.
79. Li, J.; Kelly, J. F.; Chernushevich, I.; Harrison, D. J.; Thibault, P. *Anal. Chem.* 2000, 72, 599–609.
80. Holt, R. M.; Newman, M. J.; Pullen, F. S.; Richards, D. S.; Swanson, A. G. *J. Mass Spectrom.* 1997, 32, 64–70.
81. Shockcor, J. P.; Unger, S. E.; Savina, P.; Nicholson, J. K.; Lindon, J. C. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 2000, 748, 269–279.
82. Moy, F. J.; Haraki, K.; Mobilio, D.; Walker, G.; Powers, R.; Tabei, K.; Tong, H.; Siegel, M. M. *Anal. Chem.* in press.

(陈 阳 译)

## G

## 光谱分析技术：紫外可见分光光度法

R. Raghavan

Jose C. Joseph

Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U. S. A.

## 引言

药学中研究的许多化合物是无色的。20 世纪早期, 出现了利用成色反应测定颜色的定量分析方法。随着仪器化的发展以及人们对光的理解, 紫外可见分光光度技术得到进一步发展。然而, 随着原子吸收光谱法、等离子体发射光谱法、色相色谱 (GC) 和高效液相色谱 (HPLC) 的快速发展, 人们对分光光度法的兴趣在 20 世纪 80 年代末和 90 年代逐渐减弱。HPLC 方法及仪器进一步发展, 结果, 仪器的快速扫描技术和微处理器控制技术使精致的紫外可见分光检测器再一次得到发展。随着人们对紫外可见分光光度法的应用重新产生兴趣, 出现了采用微处理器进行仪器操作、采集数据、处理数据和平滑数据的新一代全分光光度计。

## 基本概念和定义

## 1. 电磁辐射

分光光度法是利用光能测定化学物质的。光是一种叫做电磁辐射的辐射形式, 电磁辐射跨越一个非常大的区域, 从极低能量 ( $<0.0012 \text{ kJ/mol}$ ) 到极高能量的宇宙射线 ( $>1.2 \times 10^8 \text{ kJ/mol}$ )。这种能量可通过公式来表达, 其中:  $h$  是我们所熟悉的 Planck 常量 ( $6.62 \times 10^{-24} \text{ J/s}$ );  $\nu$  是频率, 与辐射以光波形式传播的速度有关;  $\nu=c/\lambda$ , 是辐射波长, 即光波中任两个波峰或波谷之间的距离。电磁辐射是连续的, 然而, 可根据能量不同将电磁辐射分为一些不同的能量区域。不同辐射区域内测定辐射的仪器和技术也有所不同。必须指明的是, 这种人为划分是人们对辐射现象理解的历史发展结果。表 1 列出了电磁辐射的不同区域。

表 1 电磁波谱

辐射(射线)	频率/Hz	波长/m	能量/(kJ/mol)
宇宙射线	$>10^{20}$	$<10^{-12}$	$>1.2 \times 10^8$
$\gamma$ 射线	$10^{19.5} \sim 10^{20}$	$10^{-12} \sim 10^{-11}$	$1.2 \sim 12 \times 10^7$
X 射线	$10^{16.5} \sim 10^{19.5}$	$10^{-11} \sim 10^{-8}$	$12\ 000 \sim 1.2 \times 10^7$
紫外光	$10^{15} \sim 10^{16.5}$	$10^{-8} \sim 0.38 \times 10^{-7}$	$310 \sim 12\ 000$
可见光	$10^{14.6} \sim 10^{15}$	$0.38 \times 10^{-7} \sim 0.8 \times 10^{-7}$	$150 \sim 310$
红外光	$10^{11} \sim 10^{14.6}$	$0.8 \times 10^{-7} \sim 10^{-3}$	$0.12 \sim 150$
微波	$10^7 \sim 10^{11}$	$10^{-3} \sim 10^{-1}$	$0.0012 \sim 0.12$
无线电波	$<10^7$	$>10^{-1}$	$<0.0012$

人眼所能观察到的辐射在  $150 \sim 310 \text{ kJ/mol}$  (波长  $350 \sim 780 \text{ nm}$ ) 的能量范围内。观察到的每种颜色都有一种补色, 这种补色与被物质吸收的光的波长相对应。表 2 列出了颜色特征与波长的大致关系。药物分析中常用的波长范围在  $200 \sim 800 \text{ nm}$  之间 (紫外和可见光区)。

表 2 可见光谱特征

波长/nm	被吸收的颜色	观察到的颜色
380~420	紫色 (violet)	黄绿色 (green-yellow)
420~440	蓝紫色 (violet-blue)	黄色 (yellow)
440~470	蓝色 (blue)	橙色 (orange)
470~500	蓝绿色 (blue-green)	红色 (red)
500~520	绿色 (green)	紫色 (purple)
520~550	黄绿色 (green-yellow)	紫色 (violet)
550~580	黄色 (yellow)	蓝紫色 (violet-blue)
580~620	橙色 (orange)	蓝色 (blue)
620~680	红色 (red)	蓝绿色 (blue-green)
680~780	紫色 (purple)	绿色 (green)

## 2. 光吸收

当具有特定波长的光穿过盛于适当容器 (石英、玻璃或塑料池) 中的稀溶液时, 光可能与其中物质以多种形式发生相互作用。一部分光被吸收, 其他未受影响的部分则通过, 但方向改变。方向改变的现象叫做散射 (scattering)。被吸收的能量可能以更低波长的光能量形式释放出来, 这个过程被称为发射 (emission)。在紫外可见分光光度法中, 测定的是入射光与出射光之间的差异。这种性质被称为吸收 (absorption), 用于药物分子的定量定性分析。如果监测入射光强度, 并与出射光强度进行比较, 会发现出射光强度有所减弱。这种减弱是由以下因素造成的: ①空气与池接触面处的反射; ②池壁的吸收; ③池与液体接触面处的反射; ④溶质的吸收; ⑤溶剂的吸收; ⑥溶液的散射; ⑦池的折射或散射。

因此, 为了只观察到由被测物引起的效应, 必须消除其他所有因素, 通常使用两个配对的小池加以实现。通过比较入射光与从这种配对小池中出射光之间的能量, 被测物吸收的光强度可以通过“吸收度”这种量的形式真正表现出来。

## 3. Beer-Lambert 定律 (或 Beer 定律)

紫外可见分光光度计测定的是入射光强度 ( $I_0$ ) 和出射光强度 ( $I$ ), 与吸收度的关系, 为:  $A = -\log (I/I_0) =$

$-\log(T)$ ，其中的  $T$  称为透射率。仪器可以以透射百分率的形式显示数据，不过更常用的是吸光度  $A$ 。根据 Beer 定律，吸光度与吸收物质的浓度和光传播路径的长度成正比： $A=abc$ ，其中  $a$  为常数，称为吸收系数或吸收率，取决于波长和浓度  $c$  的单位； $b$  为光路长度，cm。当  $c$  以 mol/L 为单位时， $A=\epsilon bc$ ，其中  $\epsilon$  叫做摩尔吸收率。Beer 定律在下列条件下成立：

- 入射光是单色光（单色光是一种单波长光，或者波长在极窄范围内，这要根据实验的可行性）；
- 入射光以等距平行光路形式穿过样品；
- 在光能量吸收时不存在化学反应；
- 样品溶液是均一的，因此，光能量不会以散射或其他反射方式发生损失；
- 每个分子的吸收相互独立，不受溶液中其他分子的影响（注意：对于高浓度溶液，这一点可能不适用）。

表 3 列出了吸收法中的常用术语、符号和术语定义，每个均来自国际纯粹与应用化学联合会（IUPAC）。

表 3 分光光度法的专用术语（IUPAC）

名称	符号	定义
透射率	$T$	$P/P_0$
吸收度	$A$	$\log P/P_0$
光程	$b$	—
吸收率	$a$	$A/bc^{(1)}$
摩尔吸收率	$\epsilon$	$A/bc^{(2)}$
波长单位	$nm$	$10^{-9}m$
最大吸收波长	$\lambda_{max}$	最大吸收处的波长

1)  $c$  的单位为 mol/L 以外的其他单位。

2) 单位为 mol/L。更早的文献中使用的其他术语见参考文献中的“Raghavan and Joseph (1997)”。

注： $b$  的单位为 cm。

#### 4. Beer 定律的适用性

光路长度固定时吸收度与浓度之间的正比例关系，只有在仪器一定和设置条件一定的情况下才能成立。如果在特定的浓度范围内呈线性关系，那么可以说这个系统遵循 Beer 定律。偏离这种正比例关系是由于仪器和化学的原因。

在 Beer 定律中，是吸收物质在特定分子态下的总浓度。如果某一特定物质浓度与溶剂浓度之间存在干扰的函数关系，可以通过选择合适的试验条件来消除这种偏差。

有时，在有机酸和有机碱中，水解或电离的程度会受 pH 的影响。此时，选择的被测物 pH 应当比一元酸的 pK<sub>a</sub> 大 3 或者小 3。此外，可以在两种物质摩尔吸收率一致时对应的波长处测定吸收度。吸收度相同时对应的波长称为等吸收点（isosbestic point）。在这个波长处，两种物质的摩尔吸收率是相同的，因此，在这个波长下测定不会偏离 Beer 定律。在毫摩尔级的浓度下测量吸收度，样品和对照品的折光率没有多大差异。然而，如果浓度增加，在导数光谱法中，折光率可能会发生改变，这样就可能严重偏离

Beer 定律。第二种偏离 Beer 定律的情况存在于导数双波长分光光度测量条件下。在下列情况下，可以忽略对 Beer 定律的偏离：

- 仪器偏离已经最小化；
- 与被测物的吸收度相比，溶剂的吸收度可以忽略不计；
- 被测物浓度在特定范围内；
- 溶质分子之间或者溶质分子与溶剂分子之间没有化学反应；
- 温度保持恒定，特别是在进行流动进样分析和反应速率测定时。

仪器参数也可能引起对 Beer 定律偏离，这将在后文中加以讨论。

## 分光光度计的构成

### 1. 仪器组件及功能

分光光度计测定的是光通过液体样品或者其他介质时光强度的变化。因此，必须具有合适的光源。光源发出的光覆盖整个波长范围，且强度各异。因此，这些波长不同的光应当进行分离。被分离的光通过被测样品。为了监测出射光，也需要聚集来自于参比溶液的入射光，这种参比溶液与样品溶液相比，具有除被测物以外的所有基体成分。出射光需要检测，同时需要合适的显示系统将数据正确地表达出来。表 4 对这些不同组件及其功能进行简要介绍。

表 4 分光光度计的组件及其功能

组件	组件的功能
电源	提供和调节光源所需的额定功率
光源	提供一定波长范围内的电磁辐射，强度视波长不同而不同
单色器	为选定波长选择一个窄谱带
入口和出口狭缝	单色器的一部分，用来选择窄光束
样品仓	容纳含有被测样品的小池和其他参比池
检测器	由光敏装置组成，将辐射能转变为电能，产生输出信号；也可由包括电子线路、微处理器以及能够放大来自于辐射能的初始信号的其他组件组成
数字读出/计算机	来自于检测器的数字信号储存于计算机中，用于而后的数据处理、图形显示或打印输出

#### 1.1 光源

通常使用两类光源，分别对应于不同的光区。在可见光区，采用钨丝灯，钨丝封于含有少量碘的石英壳内，其工作温度为 3500K，且具有良好的稳定性，使用寿命一般为 10 000h。在整个紫外光区，采用氘弧放电灯，这种氘灯由充满压力小于 0.01atm（2~3mmHg）氘气的石英壳和间隔很近的两个电极组成。当电流通过电极时，产生电子放

## G

电, 气体离子化而发出光, 同时产生波长小于 375nm 的连续发射光谱。这种灯的寿命一般为 1000h。常见的分光光度计均同时配备这两类灯, 采用一个机械光源选择器, 必要时可在两种灯间自动切换 (需要注意的是, 汞蒸气灯通常作为高效液相色谱仪紫外检测器的光源, 因为药学中的大部分有机化合物在 254nm 的波长处具有吸收, 而这种灯在 253.7nm 的波长处存在强烈的线型光谱, 所以广泛应用于 HPLC 检测器)。

### 1.2 单色器和滤光器

在前置光式分光光度计中, 具有特定波长的电磁辐射通过样品溶液。因为光源发出的光是多色光 (由所有波长的光组成), 所以当这些具有不同波长的光通过样品池, 到达检测器之前, 必须被分离至一个窄范围内, 形成单色光。通常采用两类波长选择器: ①滤光器, 具有高带宽的有限波长选择; ②单色器, 提供具有窄带宽的连续可变波长。单色器具有两种基本功能, 也就是将几近特定波长 (选定波长) 的窄带宽波长分离出来, 以及自动调节出口狭缝, 使选定波长处的光强度达到最大, 其他波长处的光最小化或忽略不计。此外, 单色器可以实现整个光谱区域内的快速扫描。单色器系统由透镜组、色散装置 (棱镜或更常用的光栅)、狭缝和滤光器组成。

单色器的入口狭缝和出口狭缝将光束中的窄带宽部分分离出来, 引导其进入光栅。为了提高或者降低到达样品和检测器的光能量, 仪器会自动改变狭缝宽度。光栅由一种叫做正弦杆 (sine-bar) 的机械装置自动驱动, 这种控制光栅的正弦杆附于一种步进马达驱动的螺旋千分尺上。因此, 仪器的适用波长覆盖 200~900nm 的范围, 波长偏差为  $\pm 0.2\text{nm}$ 。

光栅将多色光分解为一系列波长可选的单色光。紫外可见分光光度计中使用的衍射光栅是一种非常简单的光学装置, 由平行凹槽组成。分光光度计中使用的大部分光栅是通过将光敏物质涂在玻璃平板上, 进行全息照相制备而成的。使用激光束会产生一种干涉图案。随着光敏层的显色, 玻璃板上留下出色的凹槽。为了形成光栅反射, 表面以真空方式涂上一层铝制薄膜。通常在这个铝层上方再加涂一层二氧化硅保护层, 防止表面失去光泽。采用激光和全息照相技术, 这些光栅的精密度可以达到小于  $0.001\text{nm}$  的水平。

当多色光入射到光栅时, 使之旋转, 结果按分光光度计的特性只允许特定波长的光通过狭缝, 到达样品或检测器。光栅的这种旋转导致扫描一系列波长每处一种特定波长。因此, 多色光被分割成单色光, 光栅则提供稳定的平行单色光, 全息照相生产的光栅单色器中的杂散光也大大减弱。对于紫外可见分光光度计, 常用的光栅每毫米具有 1000~3000 条线。因此, 采用单个光栅作为色散装置, 已经足够覆盖 200~900nm 的整个范围。

### 1.3 样品池

样品池具有多种形状和尺寸, 可用于多种不同应用中。

最常见的是矩形池, 由石英制成, 规格为  $12\text{mm} \times 12\text{mm} \times 45\text{mm}$ , 内部长 1cm, 大约可容纳 4mL 的溶液。圆柱池的直径通常为 20mm, 光路长度从 5mm 到 200mm 不等。因为玻璃和塑料在紫外光区具有吸收, 当测定波长小于 340nm 时就必须使用石英池, 相对便宜的玻璃池或一次性塑料池在可见光区内已经完全满足要求了。具有内置水套的池可用于动力学研究, 以维持一个恒定的温度。用于流动进样和 HPLC 的流动池通常具有  $0.5 \sim 2\ \mu\text{L}$  的池容积, 光路长度约为 1cm。对于某些特殊样品, 需要采用横截面为  $2\text{mm} \times 2.5\text{mm}$ , 容积至少为  $60\ \mu\text{L}$  的池。当样品体积只有  $5\ \mu\text{L}$  时, 可以使用特殊的超微池。

池体必须保持洁净, 没有刮痕和附着液体。池的位置非常重要, 否则, 池壁会阻挡光束, 导致结果无法重现。池应当配对保存在干燥处, 最好置于保护性容器中。商业目录中提供了可获得的各种类型的池。

### 1.4 检测器

检测器是一种将光强度转变为电信号的装置。一个理想的检测器应当具有以下特点:

- 高灵敏度, 不受波长改变影响;
- 整个波长范围内任一点都具有极低的灵敏度漂移;
- 高信噪比;
- 没有暗信号 (或者很低);
- 快速响应时间;
- 与辐射功率呈线性响应;
- 易于校正和标准化。

尽管目前尚无检测器完全符合上述要求, 但是许多商品化仪器的性能已经非常接近这种理想状态。

光通常照射到涂有光敏物质的金属上, 此时会释放出电子。通过维持大约 100V 的电势差, 释放出的电子从阴极转移到阳极, 产生光电流。由此产生的光电流与光强度成正比, 经放大和数字化, 最终进行测量。测得的电流值是波长的函数。然而, 多数分光光度计使用光电倍增管产生二级放大。每个基本电子发生二级放大后, 产生的二级电子被吸引到一个叫做倍增管电极的二级电极中。通过使用 8~10 个倍增管电极, 这些电极均具有合适的取向, 相互串联, 且具有不断增长的正电势, 可以使光电流产生百万倍的放大。一些新型仪器中也会使用非常有效的硅二极管。

### 1.5 半导体硅二极管

半导体硅二极管, 也叫光电二极管, 具有特殊的电导性, 通常用于二极管阵列分光光度计。光电二极管非常有效, 因为其扫描时间只有几毫秒, 许多扫描能在极短时间内完成。此外, 获得的数字化数据可以进一步处理, 得到具有高分辨率和准确度的光谱。

### 1.6 电荷耦合检测器

这些固态检测器是多通道装置, 具有大量的光子检测寄存器。这些寄存器是集成于硅芯片中的半导体电容。这

些检测器能够检测极弱的光，一般用于探针型近红外可见分光光度计和荧光光度计。

### 1.7 读出装置

来自于检测器的电信号流入具有读出功能的装置中，这种读出系统可以是直读系统 (direct-reading system)，也可以是零点系统 (null point system)。在直读系统中，检测器输出驱动灵敏电表。在零点系统中，检测器输出通过一个参比电路得到均衡。由于电流的不均衡性，伺服电机被激活，当两个电路均衡时伺服电机则停止。电机的移动程

度直接提供一个数字读出。大多数常用的数字读出装置采用发光二极管或倍增管，提供一个可视的数字显示。它们是直接通过来自于检测器的信号进行控制。这些数字读出装置具有极快的响应。现今的分光光度计和光度计是具有数字读出功能的微处理器控制仪器。

## 仪器

分光光度计的各组件可按图 1 所示的两种方法之一进行设计。

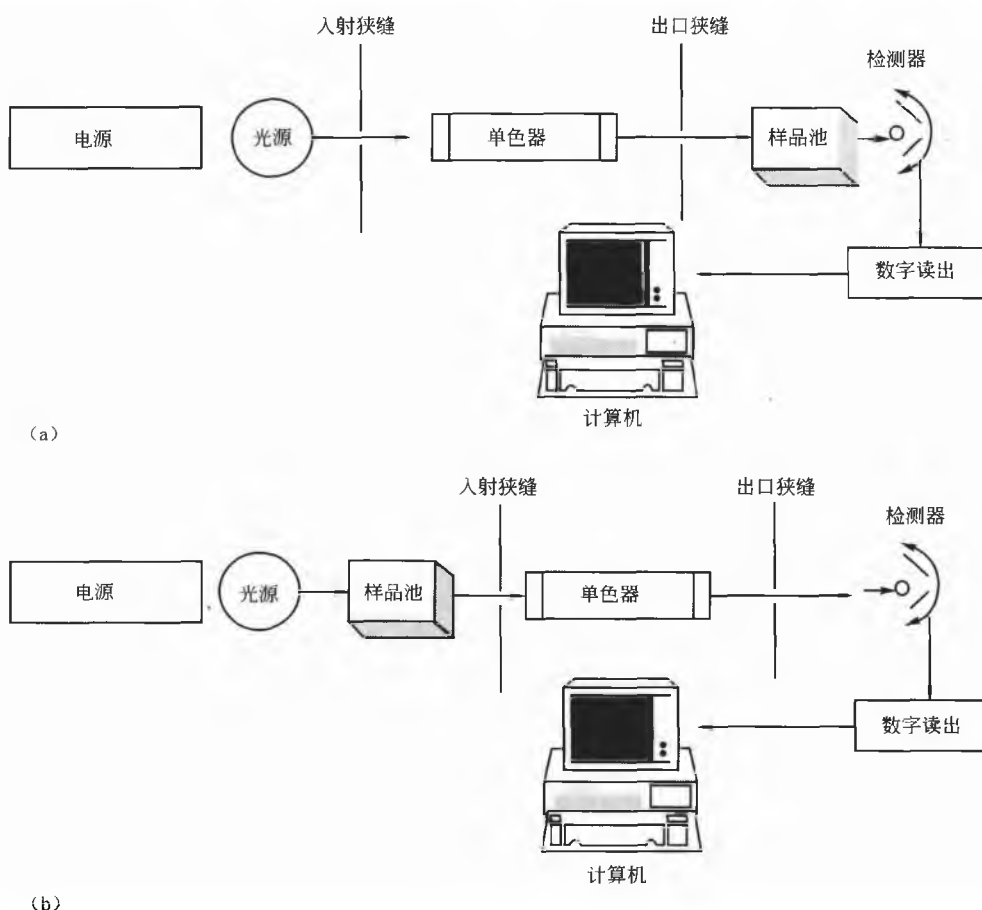


图 1 (a) 常用的紫外可见分光光度计的各组件 (前置光); (b) 反置光分光光度计的各部分组件

两种设计的唯一不同点在于样品和单色器的相对位置。然而，数据获得和表达的复杂程度、质量和速度也大大不同。下面对其作简要叙述。

### 1. 前置光式分光光度计 (forward optic spectrophotometers)

前置光分光光度计可以是单光束分光光度计，也可以是双光束分光光度计。有的单光束仪器非常简易，有的却非常昂贵，这视需要而定。简易的单光束仪器稳定性较差，漂移过高。这些缺点在配有高分辨率单色器的系统中得到

消除，单色器具有可调狭缝，整个系统通过微处理器控制，可进行数据的快速采集和评价。

双光束系统有两类，一类为双光束时间 (double-beam-in-time) 系统，见图 2 (a); 另一类则为双光束空间 (double-beam-in-space) 系统，见图 2 (b)。

在双光束空间系统中，除光源外，单束光的各部分完全被复制。在这个系统中，初始光束被反光镜分割为两条光束，其中一条通过仅含有溶剂的参比池，而另一条则通过样品池。从样品池信号中扣除参比池检测信号，吸收度则按波长作图。

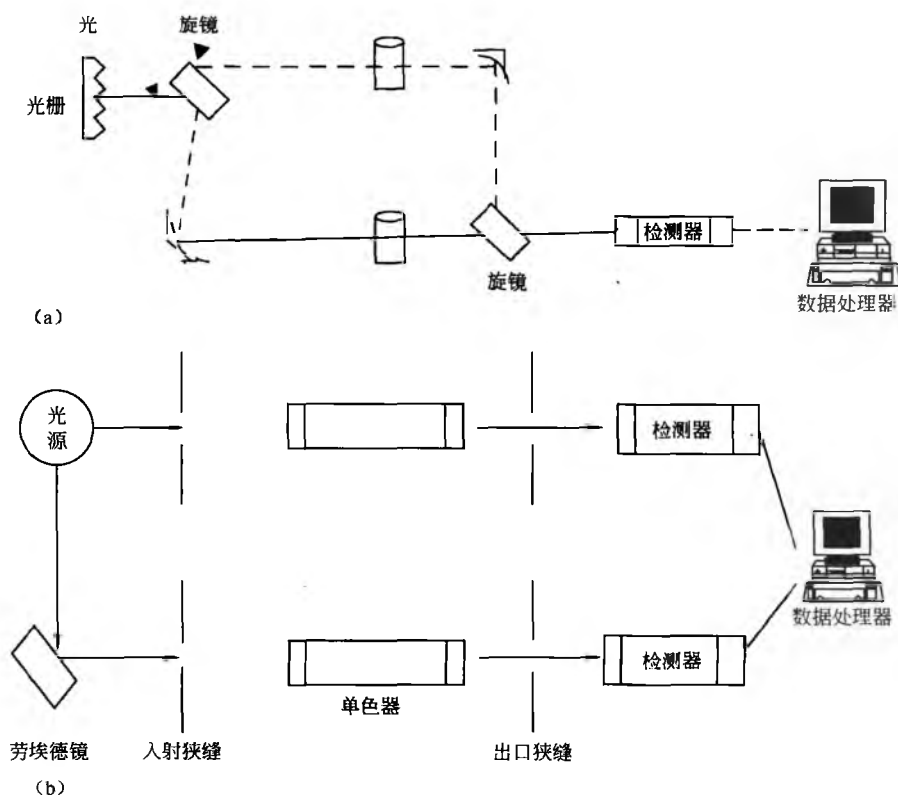


图2 (a) 双光束时间分光光度计(具有光分割器的单检测器系统)的结构示意图;可用断路电机代替反光镜; (b) 双光束空间分光光度计的结构示意图

双光束、单偏转系指双光束时间分光光度计。在这个系统中,初始光束被一种机械斩光器分割为两条光束,这种斩光器是一个旋转轮体,具有交替的镀银和切除面。这种可旋转的斩光器,除了可以分割光外,还可向每束光中引入一暗光束,这样检测器记录到的是一系列暗-参比、暗-样品互相交替的信号。选用合适的斩光频率和同步信号,三种信号可以在10~50ms内完成测定。这种结构设计,更易于微处理器控制的应用,已经用于绝大多数快速扫描分光光度计。

双光束仪器可以补偿:

- 光输出信号的波动;
- 检测器和放大器的漂移;
- 波长变化时光源强度的较大变化。

## 2. 反置光式分光光度计(reverse optic spectrophotometers)-二极管阵列检测器

光电二极管阵列检测器是建立在图3所示的反置光式基础之上的。经色散光栅(单色器中)色散发出的光到达二极管阵列检测器中,这种检测器由一系列微型二极管线性排列而成。这种光电二极管的数量在每列256~4096个不等,最常见的是2048个。许多这种二极管被集成于一种长型硅芯片中,每个芯片通常长1~6cm,而单个二极管的宽度可能从15~50 μm不等。因此,每个二极管的输出信

号与不同波长处的光相对应。通过依次扫描每个二极管的输出,可以得到一个光谱图。因为电子处理过程非常快,可以在5ms时间内指定波长范围内的完整光谱图。光电二极管产生的模拟信号经数字化后,被传输到计算机中。多种不同种类的多通道检测器和其他二极管阵列检测器已经商品化。这些快速扫描型检测器可以用于:

- 混合物中多组分分析;
- 在反应动力学中跟踪瞬间存在的中间产物的反应途径;
- 通过连续监测控制进程
- 测定片剂的溶出速率;
- 获得流动溶液的光谱图(在HPLC中检测)。

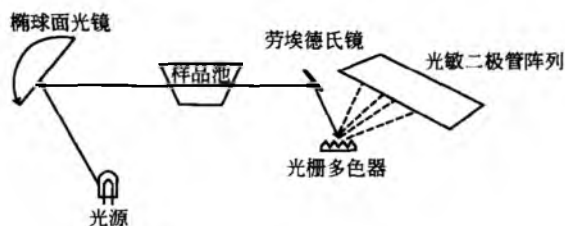


图3 光电二极管阵列检测器的示意图

这些新型仪器配有几个微处理器,可以进行以下软硬件操作:

- 自动进样，包括装载池底座和连续样品测定；
- 自动混合，添加试剂，必要时还可进行样品稀释，和其他样品制备操作；
- 设置工作条件，比如选择灯、滤波器、波长驱动和数据采集模式等；
- 控制自动校正、基线噪声自动保存和基线扣除；
- 多种数据处理功能，如光谱平滑、数据图形显示、数据和峰扩展等；
- 光谱的添加和扣除，为了进行比较，可创建重叠光谱图；
- 控制涉及的外部设备，如打印机、绘图器等；
- 自测程序，记录灯使用情况、维护记录等，以符合 GLP 要求。

## 分光光度计的性能参数

### 1. 指标定义及参数列表

分光光度计的性能取决于许多能够影响数据质量的参数，也就是指波长准确度、光度（吸收度）准确度、光谱带宽偏差、杂散光强度和仪器线性响应等。这些性能指标可以根据仪器厂商提供的详细规格进行评价。表 5 为一台常用双光束分光光度计的标准规格表。

下面对一些规格术语进行简单介绍，这些规格值决定了仪器的性能指标。

### 2. 波长准确度和波长校正

波长准确度对应于各种仪器测定的波长的准确性是可以比较的。在多数分光光度测定程序中，通过将被测物的吸收度与对照品的吸收度进行比较，实现被测物的定量。对照品的配制浓度通常与被测物的浓度一致，测定发色团  $\lambda_{\max}$  处的吸收度。这种方法对于大多数滤波器光度计是可行的，因为比较是在固定波长和相同光谱带宽条件下进行的。然而，许多光栅分光光度计是可以连续选择波长的，波长准确度和重现性以及被测物的吸收强度必须进行校正。这可以通过波长校正来完成，通常使用由仪器厂商提供的氧化钛玻璃。当在 280~650nm 进行波长扫描时，氧化钛玻璃能够在 241.5、279.3、287.6、333.8、360.8、418.5、536.4 和 637.5nm 等波长处产生主峰。波长准确度也可以通过由低压汞灯或氘灯产生的发射谱线进行检查，用于校验的光谱明线位于 486.0nm 和 656.1nm 波长处。

对于宽带通的滤波，钛玻璃滤光片可用于可见光区的波长校正。国家标准技术研究所 NIST 发布的专用标准物质称为 SRM（标准参照物质），也可用于校正和验证。有关这些标准物质的信息在互联网中直接获得，网址为 <http://www.i-nist.gov/itl/div898/Index.html>。

表 5 常用分光光度计的标准规格表

规格	双光束仪器的常见值
波长范围/nm	190~900
波长准确度/nm	狭缝宽为 0.2 时， $\pm 0.3$
波长重现性/nm <sup>1)</sup>	$\pm 0.1$
波长扫描速度	快速、中速、慢速、超慢速
带宽/nm	0.1~7.5（可变可选择）
分辨率/nm	$\pm 0.1$
杂散光/%	220nm 和 340nm， $< 0.015\%$ 220nm 和 340nm（漂移仪器）， $< 0.0003\%$
光度准确度/AU <sup>2)</sup>	0~0.5， $\pm 0.002$ 0.5~1.0， $\pm 0.004$
光度重现性 <sup>3)</sup> U/AU	0~0.5， $\pm 0.001$ （采用 NIST 930D 滤波器） 0.5~1.0， $\pm 0.002$ $\pm 0.3\%T$ （0~100%T）
光度模式	吸收度（Abs）、透光率（%）、反射系数（%）、能量（E）
基线校正	可选择的信息储存硬件
漂移/(AU/h)	预热后 $< 0.0004$
响应时间或时间常数	0.1~5 s
光度范围/AU	-4.0~5.0
基线平整度 <sup>4)</sup> /AU	$\pm 0.001\text{Abs}$ 以内
扫描速度	50~2 100nm/min

1) 波长重现性是指测定波长的精密度。

2) AU 为吸收度单位。

3) 光度重现性是指测定吸收度的精确度，特别是采用标准品测定时。

4) 基线平整度是指相对于波长范围的空白对空白光谱，偏离 0.0AU 的平均值。注意：这可能与扫描速度有关。

### 3. 波长重现性和带宽

#### 3.1 光谱带宽（SBW）

波长重现性是指测定波长的精密度，带宽是指半峰高处发射谱带（来自于单色器）的宽度，其值通常由厂商提供。采用汞蒸气灯，也可以检查光谱宽度。定义在 243.7、364.9、404.5、435.8、546.1、576.9 和 579nm 等波长处的大量发射谱线可以用来检查光谱带宽。然而，测定吸收度的准确度取决于光谱带宽与吸收物的标准带宽（NBW）的比值。大多数活性药物化合物的标准带宽通常大约为 20nm 或更高。当 SBW/NBW 值为 0.1 或更低时，测定吸收度的准确度为 99.5% 或更高。

#### 3.2 分辨率

光谱分辨率是指两个相邻波长间的分离度。当两相邻峰之间的吸收度最小值为最大值的 80% 或更低时，可以说这两个相邻峰达到分离。大多数双光束分光光度计的分辨

率低于 0.5, 通常为 0.1。然而, 许多二极管阵列和快速扫描检测器的分辨率在 1~2nm。

#### 4. 光度准确度

将测定吸收度与公认标准物质的吸收度进行比较, 来测定光度准确度。重铬酸钾溶液被推荐用于评价光度准确度, 详见文献 [11]。然而, 仪器噪声、漂移和杂散光都会影响光度准确度和精确度, 下面将分别进行讨论。

##### 4.1 噪声

紫外可见分光光度计中的噪声是指在吸收信号测定过程中产生的不确定值。实际上, 噪声有两个来源, 其来自于光源强度, 称为 Schott 噪声, 另一个则与光源强度无关。如果调节被测物浓度使测定吸收度为 0.3~1.2, 那么分光光度测定中的噪声影响能够大大降低。双光束仪器中噪声的一个重要来源就是样品池和参比池的位置没有放妥。池内的微小瑕疵能够引起反射和散射损失, 这随池窗与光束的接触情况变化。

##### 4.2 漂移

光度准确度也受漂移值的影响。漂移是由测定过程中光源强度的变化引起的。通过扣除被测物在无吸收光区内参比波长处的背景吸收, 可以消除这种影响。这种“内参比”大大提高了准确度。如果漂移随波长变化而变化, 可以选用两个参比波长, 一个低于测定波长, 另一个则高于测定波长, 但都应处于无吸收光区内。假设这种漂移呈线性, 可以扣除测定波长处由线性关系计算得到的漂移值。

##### 4.3 杂散光和狭缝宽

光谱带宽与狭缝宽成正比。当狭缝宽变窄时, 带宽减小, 光谱纯度提高。然而, 当狭缝宽减小时, 信噪比也相应减少, 使精密度降低。2nm 的狭缝宽对于绝大多数谱带已经足够, 0.5~1nm 的狭缝宽更适用于尖锐谱带。在 HPLC 检测器中, 为了使灵敏度达到最大, 狭缝宽自动设置为 5nm, 除非需要进行快速扫描。进行快速扫描时, 狭缝宽通常变为 1nm。杂散光是指能够被检测器识别, 且位于单色器选择的窄波长谱带之外的所有光。单色器内的散射和衍射也会引入杂散光。杂散光通常用进入样品腔或检测器的杂散光比值 (或百分比) 来表达。在仪器规格中, 220nm 和 340nm 处的杂散光通常为 0.015%。目前使用的多数双光束仪器具有极低的杂散光值。当测定吸收度约为 0.5 AU 时, 数值低于 0.1% 的杂散光使吸收度测定误差低于 0.5%。对于定量分析, 如果测定波长低于 220nm 或者高于 330nm, 杂散光就显得格外重要, 因为光源强度在这些区域内很低。仪器厂商通常提供 220nm 和 340nm 处的杂散光数据。随着仪器的老化, 杂散光的影响也随之增加。因此, 必要时应对杂散光强度进行评价。

## 5. 影响光谱的因素

光谱中不同谱带的位置和强度取决于多种因素, 某些因素的影响相当大。

### 5.1 溶剂影响

光谱中不同谱带的位置和强度取决于所用溶剂的性质和状态。当光被吸收时, 除了引起吸收的电子激发外, 振动能和转动能也会发生变化。结果, 当光谱产生于气相中的振动和转动时, 可以看到光谱的精细结构。然而, 在溶剂介质中, 由于热的搅动以及溶质与溶剂间的各种相互作用,  $\lambda_{\max}$  的位置可能随溶剂变化而有所不同。总的来说, 在极性溶剂中, 由于分子、电子和氢键的相互作用, 光谱趋向于宽谱带。在水溶液中, pH、被测物浓度、离子强度和温度也会改变最大吸收峰的位置和强度。

### 5.2 偏离 Beer 定律: 仪器因素

到达样品池的光是多色光中的窄谱带光, 因此, 有效摩尔吸收率是指多个波长处的平均值。结果, 低浓度时会发生 Beer 定律的正偏离, 而高波长处则会产生 Beer 定律的负偏离。这种非线性行为也可能是光路长度改变的结果。当光束在溶液/池壁接触面被反射回到溶液中时, 会横穿多个光路, 因此, 有效光路长度增加, 吸收度也随之增加, 这种情况在低浓度时比较显著 (~0.3%)。

## 分光光度法的应用

在药物分析中, 分光光度法通常用于已知组分的定量测定, 也可用于化合物的定性分析。这里将进行简要介绍, 详见文献 [5, 6] 对这些方法的广泛综述。

### 1. 定性分析

溶液中被测物的紫外可见光谱通常较宽, 具有的窄谱带和肩峰很少。然而, 当分子中存在某些特殊官能团时, 可以观察到一些常见的光谱行为。根据这些研究, 同时在量子力学运算的帮助下, 人们建立了结构与官能团之间的经验关系。常用的光谱术语及定义见表 6。

表 6 光谱术语及定义

光谱术语	定义和注释
发色团	官能团, 当存在于分子中时, 可在 200~800nm 的波长范围内产生吸收
助色团	分子中的附加官能团, 可引起红移
蓝移	最大吸收波长向更低波长处移动
红移	最大吸收波长向更高波长处移动
增色 (hyperchromic)	吸收强度增加
减色 (hypochromic)	吸收强度降低



## 2. 有机官能团和结构说明

在分子中，紫外光或可见光的吸收代表着键合电子的激发，因此，根据最大吸收波长的位置和强度，可以推断出官能团的结构。紫外可见光谱法可以作为鉴别官能团的其他技术的有力补充。分子基态（较低能态）下的电子吸收光能后，被激发至更高能态。所吸收的能量可以测定。表 7 列出了一些常见的发色团及其光谱特征。

表 7 某些有机官能团的光谱特征

官能团种类	$\lambda/\text{nm}$	$\epsilon/[\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})]$
饱和烃类	$<200$	—
烯烃、炔烃、芳香族化合物、芳香杂环、高度共轭的脂肪族化合物，如胡萝卜素	$200\sim500$	$10^4\sim10^5$
醚类、胺类、硫化物类、卤代烃	$150\sim260$	$100\sim1000$
酮类、醛类、酰胺类、酯类、羧酸、硝基化合物、氮杂环化合物，如吡啶	$250\sim600$	$10\sim100$

如果某一特定波长处具有吸收谱带，则强烈暗示着分子中存在某种特定发色团。当分子中添加了附加官能团时，光谱特征发生改变。例如，丁二烯中的  $\text{C}=\text{C}$  双键在 214nm 的波长处具有吸收。当分子中形成第三个双键共轭时，最大吸收波长将向长波长方向红移 30nm 左右。同样，碳原子上发生烃取代，产生分支，可使最大吸收波长再红移 5nm。Woodward-Feiser 法则提供的经验关系可以帮助人们推断有机分子中最大吸收波长的位置。这种经验法则可用于确定有机分子的结构，或者区别某些同分异构体。有机化学家将光谱数据作为辅助的有力工具，来确定有机化合物的结构。需要进一步了解结构和光谱的关系，参见文献 [19]。

## 3. 无机离子的光谱

在无机阴离子中，通常存在从非键合低能态到激发态（从  $n$  跃迁到  $\pi^*$ ）的激发。例如， $\text{NO}_3^-$  在 313nm 处具有吸收。铬酸根和重铬酸根离子具有出色的吸收光谱，常用于仪器校正。然而，这些数据还无法用于构象鉴别。具有颜色的无机阳离子通常具有良好的光谱特征，这些具有出色吸收光谱的化合物通常是跃迁和内跃迁形成的金属阳离子配位络合物。例如，铜离子在微酸性水溶液中显淡蓝色，而在氨介质中却显深蓝色，这是金属离子络合物中配位体的存在使  $d$  轨道发生分裂的结果：一组三条  $d$  轨道称为  $t_{2g}$  轨道，其余的一组则称为  $e_g$  轨道。

在铜离子水溶液中，金属离子呈八面体配位，亦即，金属离子位于中心，被 6 个配位体包围，每个配位体位于八面体的顶点。这种配位体排列的结果是，邻近配位体轴中的  $d$  轨道电子，与那些远离邻近轴的轨道相比，承受着

排斥力，可以达到更高能态。五条等能量的  $d$  轨道被裂分为两组，两种能态之间的分离程度取决于由配位体形成的配位体场。铜离子具有 9 个  $d$  电子，其中 6 个为一组占据低能态  $t_{2g}$  轨道，剩余 3 个电子则占据激发态  $e_g$  轨道。 $e_g$  轨道能够容纳 4 个电子，通过吸收可见光，一个基态电子被提升到激发态空  $e_g$  轨道中，这就形成了多数金属离子的特征吸收。通常药物制剂使用的 EDTA 可以形成六面配位络合物，从而稳定和溶解金属离子。引用的例子是八面体裂分。同样，在四面体结构中，配位体占据四面体的顶点；在平面正方形络合物中，则占据正方形的四个角。四面体和平面正方形络合物比较相似，但是其  $d$  轨道的裂分却不同。取决于形成的配位体场的不同，同一金属离子的光谱特征也不相同。

## 4. 荷移络合物

在可见光区引起光吸收的第三类电子跃迁归结于电荷转移络合物的形成，例如在碘滴定中，使用淀粉为指示剂， $\text{I}_2^-$  产生蓝色；例如  $\text{Fe}^{3+}$  和硫氰酸根离子  $\text{SCN}^-$  之间的反应。在这种情况下，电子从给予体（ $\text{SCN}^-$ ）转移到接受体（ $\text{Fe}^{3+}$ ）中，实际效应则是  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{SCN}$  自由基形成的内氧化还原反应。这类内氧化还原反应通常是可逆的。然而，这种电荷转移络合物偶尔也会经历不可逆的氧化还原反应，结果产生光化学氧化还原反应。有机分子中形成的类似电荷转移络合物可在紫外光区产生特征吸收，从而用于定性分析。

## 5. 定性鉴别

紫外可见光谱法很少直接用于某组分的确认。然而，将色谱分离组分中得到的被测物光谱图，与同一色谱条件下得到的参比化合物光谱图进行比较，这种方法广泛用于洗脱峰的鉴别和色谱纯度测定。常用的二极管阵列/快速扫描分光光度计就属于这类应用。随着计算机运算法则的恰当使用，将两个或更多化合物的光谱图进行点对点的精确比较逐渐成为可能。第一种方法是首先在一定的色谱条件下，确定某一特定药物或化合物中含有某一单独的色谱组分，随后产生的光谱数据就可以用于被测物的鉴别和光谱纯度测定。第二种方法是通过比较吸收峰极大和吸收峰极小处的吸收度比值进行鉴别。USP24 收录的顺铂和甲基多巴即采用这种鉴别法，其中规定顺铂的吸收度比值为 4.5 ( $\lambda_{301}/\lambda_{246}$ )。然而，对于盐酸甲基多巴，则规定标准物质和供试品在相同浓度条件下的吸收度差值不得超过 3.0%。

## 6. 定量分析

吸收光谱法在化学组分定量分析的各个领域中有广泛应用，其具有如下特点：

- 在大量系统中广泛适用；
- 灵敏度非常高，可进行 ppm 到 ppb 级的测定；
- 能够选择波长、溶剂、pH 和添加试剂，使通常选择性较差的得到认可；

- 准确性良好,能够得到0.5%~3.0%的相对不确定度(在一定条件下,采取适当的防范措施可使误差最小化至0.1%);

- 操作简单方便;
- 某些配备便携计算机的探针分光光度计可进行定点采集数据。

## 7. 用于本身具有吸收的物质

事实上,所有的有机化合物和多数无机化合物在210~700nm的范围内都具有吸收,传统的测定法一般包括以下几个步骤。

### 7.1 溶剂的选择

溶解性可达到每毫升0.1mg到几毫克的溶剂都是适用的。选择的溶剂应当是透明的,也就是说背景吸收极小,这一点非常重要。光谱级的有机溶剂已经商品化了,其可以保证极小的背景吸收。只有这类溶剂才推荐使用。对于水溶液,pH、温度、介质离子强度和干扰物存在与否等可变因素应于适当控制。

### 7.2 波长的选择

通常,选择光谱扫描图中最大吸收所对应的波长。在 $\lambda_{\max}$ 处,灵敏度最高,且在紧邻最大吸收波长的窄区域内,吸收度保持恒定。因此,微小的波长变化不会改变响应值,同时最大吸收波长处的吸收度受仪器等不确定因素的影响也较低。然而,如果灵敏度足够高,同时最小吸收波长处的干扰吸收也可以忽略,那么也可以选择最小吸收波长进行测定。

参比池和样品池在使用前必须配对,并正确进行清洁和冲洗。为了消除池外表面的绒毛和薄膜,推荐使用在甲醇或乙腈中浸湿的镜头纸进行清洗。当所有条件都符合时,可以通过比较测定法进行定量。参比标准物质浓度( $C_s$ )通常调节到与被测物的期望浓度( $C_0$ )非常接近,然后测定标准吸收度( $A_s$ )和样品吸收度( $A_u$ ): $(A_u/A_s) \times C_s = C_0$ 。

这种直接测定法可用于药物制剂生产中的含量测定。生产过程中的制剂很可能不含有潜在的降解物质,因此,通常不存在降解物的干扰。有时干扰可以通过杂质或被测物自身的溶剂萃取加以消除。使用合适的无吸收添加物,可选择性的反应或屏蔽干扰物,也可以消除干扰。

### 7.3 标准加入法

标准加入法可以在下列情形之一下使用。如果基体干扰是个常数且很小,那么可将样品稀释至一个已知体积,测定吸收度。然后加入倍数体积已知浓度的被测物参比标准物,并稀释至同样体积,测定由此制备的每个样品的吸收度。将加入体积对吸收度作图,通过外推加入体积的零点,从而获得被测物的浓度。图4为加入至固定体积溶液中的药物绝对质量与测定吸收度的关系图。横坐标上对应

于吸收度零点的4.08值就是样品中药物的质量。

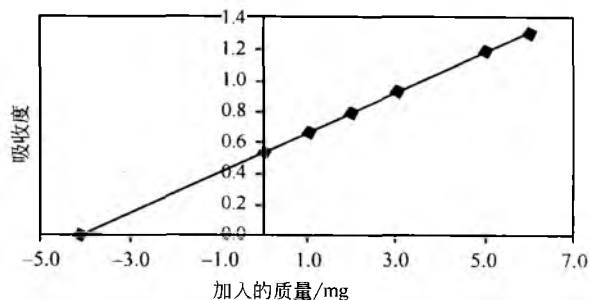


图4 加入质量与吸收度的关系图

### 7.4 混合物分析

溶液的总吸收度是混合物中各个组分的吸收度之和。例如,对于1cm的池,在双波长中任一波长处测得的总吸收度与浓度具有的关系为

$$A_{\lambda 1} = A_1 + A_2 = \epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2$$

$$A_{\lambda 2} = A'_1 + A'_2 = \epsilon'_1 c_1 + \epsilon'_2 c_2$$

制备已知浓度的被测物溶液,在两个波长处分别测定这些溶液的吸收度。同时代入以上两个方程中,就可以得到 $c_1$ 和 $c_2$ 的两个方程。接着将单个组分的已知浓度值和4个摩尔消光系数的计算值代入联立方程中,就可以得到混合物中两组分的未知浓度。多组分分析通常用于片剂的溶出度测定。基于法定方法用于多组分溶出度试验的标准软硬件,可以从仪器厂商处获得。

## 8. 导数光谱法

紫外可见分光光度计所显示的吸收度为波长的函数: $A=f(\lambda)$ 。在最大吸收处,导数 $dA/d\lambda=0$ ;二阶导数 $d^2A/d\lambda^2$ 为最大负值。对于所有偶数阶的导数,光谱图均能显示良好的峰,可用于分析测定。导数光谱法具有如下优点:

- 与扩散状最大吸收相比,导数图中的最大吸收位置定位更加精确,这样,不同的化合物可得到不同的导数光谱图,即使它们的常规光谱图十分相似;
- 能够轻松分开重叠光谱图,不需要传统技术进行分离;
- 在定量分析中,选择性和灵敏度得以提高;
- 与代数计算相结合,导数光谱法更加适用于多组分分析。

## 9. 差示分光光度法

当样品中同时存在最大吸收波长相近的两种成分,或者样品中存在基体干扰时,可以采用这种方法,即在参比池和样品池中分别加入相同浓度的样品溶液,通过两个吸收度的差值进行测定。接着,池中组分可以通过改变pH、或者加入合适的反应物、或者改变溶液的温度来进行调节,测定吸收度的差值。例如,当pH为3.0时,某一物质具有

吸收,测定其吸收度;改变 pH 至 7.0,相同波长处的吸收度发生变化。然而,干扰物质对吸收度的贡献却与 pH 无关。这样,测得的吸收度差值就消除了来自于基体的吸收,差值与浓度成比例。

在浑浊不清的溶液中,吸收度受样品散射的影响,这时可以测定两个吸收度:分别在最大吸收波长处和被测物没有吸收的另一波长处。这样,吸收度差值与被测物浓度成比例,从而计算出被测物浓度。差示分光光度法用于片剂、复方药物制剂、植物提取物、糖浆、生物制品如血液和血清、注射油剂等的组分测定。采用这种方法时,除了一些常规要求,如精确安置完全配对的小池外,溶液应当保持均匀,测定波长处仪器的杂散光应当极小。

## 10. 用于无吸收的物质

测定被测物浓度时,本身具有吸收的物质经常受低选择性、低灵敏度和混合组分中干扰组分等限制。在这种情况下,目标被测物可与合适的反应物发生反应,得到一个新产物,其在紫外光区的高波长处,或者更多的是在可见光区中具有吸收。选择的合适反应物应当满足以下条件中的一条或更多:

- 用于无分光光度活性的化合物的定量。这些化合物通常具有活性官能团,如羟基、氨基等,可以反应生成成分光活性产物;

- 提高选择性。当样品中存在多个组分,且每个组分在被测物最大吸收波长处均有吸收时,可以选择对被测物具有专属性的合适化学反应,消除吸收组分的影响;

- 提高灵敏度。在许多情况下,被测物本身具有吸收。然而,这尚不足以用于所需浓度级(ppb 或 ppm 级)的含量测定。在药物生产中,有时需要确定生产系统中的某一活性物质是否已被清洗至一定浓度以下。在这些情况下,通过合适的化学反应,生成具有高摩尔吸收率的产物,可以进一步提高灵敏度。例如,尽管顺铂在 210nm 波长处具有良好的吸收灵敏度,但仅仅可以测定 0.1mg/mL 左右的浓度,尚不足以用于痕量测定。然而,通过与二乙基二硫代氨基甲酸酯(DDTC)反应,可以获得具有高摩尔消光系数的铂 DDTC 络合物。采用色谱柱切换技术和色谱分离技术提高浓度,检测限可以达到 0.2 ppb,见文献 [12, 13]。没有必要总是加入化学反应物,通过被测物的电化学反应,或者使用脉冲式光化学激发,可以得到一个氧化产物,产生的物质可能更加适用于光谱定量分析。然而,如果选择试剂进行反应,必须考虑以下几点,从而成功优化灵敏度和(或)选择性:

- 合适的试剂浓度、溶剂和混合物组成;离子强度、pH 和反应混合物的温度;

- 适当的反应时间,使反应完全,或获得与被测物浓度成比例的重现性响应;

- 对试剂空白进行相同处理,以考虑可能影响反应的基体变化。

关于建立在化学反应基础上的分光光度法应用的优秀

文章见参考文献。

## 11. 比色法

### 比色管

在药物制剂中,浅黄色可能由赋形剂带入,可能是生成有色降解物的结果,也可能在进行重金属等限度检查时故意产生的略带颜色的物质。这种情况下需要进行目测检查,通常采用玻璃比色管,即奈斯勒管(Nessler tubes),其具有一致的横截面和平底。这些比色管应当进行配套,尽可能使内径和长度相同,在白色背景上自上而下的透过溶液进行观察。通常将颜色深浅未知的样品与两个相邻的标准色进行比较,其中一个深于未知颜色,另一个则浅于未知颜色。报告时表达为:颜色浅于比较的最深标准色。为了符合法定的颜色要求,专用仪器已经商品化。

## 12. 探针型分光光度计

多数浸入型(dip-type)紫外可见分光光度计,采用与高灵敏度电荷耦合阵列检测器相结合的光纤采样技术。这种探针直接插入测定样品中,光源发出的光通过光纤传播至其末端,光透过样品传播 0.5cm,再由曲面镜后表面反射回透过样品 0.5cm,然后回到输入滤波器中。样品吸收部分光,反射回小部分携带样品光谱信息的光。这种反射光通过合适的导向纤维回到电荷耦合阵列检测器中,通过合适的装置将光谱显示出来。通过放大微弱的反射光,可以直接测定溶液的浓度。结果,这种技术用于在线检测。可选购远程光纤进样的不仅仅限于液体,也可以为粉末和固体物质。这种分光光度计经微型化,可以设计成手持式,便于携带,可用于现场测定。探针型分光光度计也可用于分光光度滴定法。

## 13. 分光光度滴定法

随着一定体积滴定液的加入,可以监测被测物质的吸收度,将得到的吸收度数据对滴定液体积作图。这种滴定曲线具有多种形状,与被测物的吸收性质、加入试剂或者生成的产物有关。然而,在所有情况下,曲线斜率在等当点附近逐渐变化。将等当点前后的两个线性部分外推,会得到一个交叉点,与交叉点对应的滴定液体积就是滴定的等当点。在溶液中的被测物、所加试剂和生成产物中,任一个或两个可能具有光谱活性,因此,总共可能会有六种滴定曲线形状。由于这种滴定法代表了一系列分析测定,所以分析的准确度非常高。

这种滴定法可用于化学计算和测定络合物的结构常数。在这些方法中,金属浓度和溶液总体积通常保持恒定,但是配位体与金属离子的比例却不断变化。从吸收度对摩尔分数的作图中,可以获得金属和配位体之间的化学计算关系。在生物化学测定中,这种方法适用于确定化学计算关系和测定结构常数或键合常数。

# G

## 分光光度法的方法验证

用于药物化合物分析的紫外可见分光光度法需要进行方法验证。一旦方法建立,同时会得到精确度、准确度、线性响应行为、定量限、检测限、选择性和耐用性等数据。这些术语在许多法定专论以及ICH、USP和FDA的指导原则中都进行了详细定义,这里就不再详细介绍。然而,应当强调的是,如果没有适当的验证数据和足够的理解,方法结果是如何受微小的实验参数日间差异的影响,就难以得到可靠的常规数据。

### 参考文献

- Banwell, C. N.; McCash, E. M.; *Fundamentals of Molecular Spectroscopy*, 4th Ed.; McGraw-Hill: New York, 1994.
- Burtis, C. A., Ashwood, R. E., Eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed.; W. B. Saunders Co.: Philadelphia, 1999.
- Clark, B. J.; Frost, T.; Russell, M. A. *UV Spectroscopy: Techniques, Instrumentation, Data Handling*; Chapman & Hall: London UK, 1993.
- George, W. O.; Willis, H. A. *Computer Methods in UV, Visible and IR Spectroscopy*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1990.
- Gilpin, R. K.; Pachla, L. A. *Pharmaceutical and Related Drugs. Anal. Chem.* 1997, 69 (12), 145R—163R.
- Gilpin, R. K.; Pachla, L. A. *Pharmaceutical and Related Drugs. Anal. Chem.* 1999, 71 (12), 217R—233R.
- Görög, S. *Ultraviolet and Visible Spectrophotometry in Pharmaceutical Analysis*; CRC Press, Inc.: New York, 1995.
- Görög, S.; Bihar, M.; Csizér, É.; Dravetz, F.; Gazdag, M.; Herényi, B. Estimation of Impurity Profiles of Drugs and Related Materials. Part 14: The Role of HPLC/Diode-Array UV Spectroscopy in the Identification of Minor Components (Impurities, Degradation Products, Metabolites) in Various Matrices. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1995, 14, 85—92.
- Owen, T. *Fundamentals of Modern UV-Visible Spectroscopy, A Primer*, Hewlett-Packard Publication Number, 12-5965-5123E; Hewlett-Packard Company: Germany, 1996.
- Perkampus, H. H., Ed. *UV-VIS Atlas of Organic Compounds*, 2nd Ed.; VCH Publishers: 1992.
- Raghavan, R.; Joseph, J. C. *Ultraviolet and Visible Spectrophotometry in Pharmaceutical Analysis*; Swarbrick, J., Boylan, J., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 15, 293—339.
- Raghavan, R.; Mulligan, J. A. Low-Level (PPB) Determination of Cisplatin in Cleaning Validation (Rinse Water) Samples. I an Atomic Absorption Spectrophotometric Method. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (4), 423—428.
- Raghavan, R.; Burchett, M.; Loffredo, D.; Mulligan, J. A. Low-Level (PPB) Determination of Cisplatin in Cleaning Validation (Rinse Water) Samples. II. A High-Performance Liquid Chromatographic Method. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (4), 429—440.
- Silverstein, R. M.; Weber, F. X.; Silverstein, R. M. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*; John Wiley & Sons: New York, 1997.
- Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Niemann, T. A. *Principles of Instrumental Analysis*, 5th Ed.; Saunders College Publishing: Chicago, 1998; 299—351.
- Soares, O. D. D.; Costa, J. L. C. Spectrophotometers Intercomparison for Spectrophotometric Scale Harmonization. *Rev. Scientific Instruments* 1999, 70 (12), 4471—4481.
- Sykes, P. A.; Shiue, H.-C.; Walker, J. R.; Bateman, R. C., Jr. Determination of Myoglobin Stability by Visible Spectroscopy. *J. Chem. Ed.* 1999, 76 (9), 1283—1284.
- Talsky, G., Ed. *Derivative Spectrophotometry*; VCH Publishers: New York, 1994.
- Thomas, M. *Ultraviolet and Visible Spectroscopy. Analytical Chemistry by Openlearning*; Ando, D. J. Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1997.
- Thomas, M. *Ultraviolet and Visible Spectroscopy. Analytical Chemistry by Openlearning*; Ando, D. J. Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1997.
- United States Pharmacopeia, 24th Ed., National Formulary, 19th Rev. The United States Pharmacopeial Convention Inc.; Rockville MD, 1999, General Chapter 851.
- Williams, R. Application of Fourier Transform Spectrometry in the Ultraviolet, Visible, and Near-IR. *Appl. Spectrosc. Rev.* 1989, 25, 63—79.

(陈阳译)

## 过滤器和过滤

Maik W. Jornitz

Sartorius Group, Germany

### 引言

过滤分离工艺广泛应用于生物制药行业，它可以除去液体、空气和气体中的杂质，如颗粒物，但主要是微生物。微生物的去除可用无菌过滤的方法来实现，若药品可热灭菌，也可以通过减少生物负载来实现，这样能避免内毒素（革兰氏阴性菌碎片）水平的升高<sup>[1]</sup>。

工业上过滤器的结构有许多种，如用于粗滤目的的薄片式或标准深度过滤器。扁平过滤膜主要用于微生物的检测和质量标准，最常见的弹筒式过滤器包括深度过滤棉网和膜过滤器。这种膜过滤器可由不同用途的膜高分子制成。这些材料将在下文中介绍。

FDA 关于采用无菌工艺生产无菌药物制剂的指导原则定义了灭菌级的膜过滤器，无菌工艺能在 2bar 压差时，每平方米过滤面积上截留  $10^7$  个缺陷短波单胞菌（以前称为缺陷假单胞菌）<sup>[2,3]</sup>。这种截留效率必须用实际的药品和工艺参数来验证，因为截留效率可能受到过滤器的相容性、稳定性和（或）微生物尺寸及存活率的影响<sup>[4,5]</sup>。进行这些所谓的产品细菌挑战性试验是法规的要求<sup>[6]</sup>，因此属于标准过滤器验证。在进行这些挑战性试验前需要评估一些参数，如产品的杀菌作用。最近出版的 PDA 技术报告 26 描述了个别参数，如可能的作用和机理，这些参数用于进行挑战性试验。此外，报告还讨论了过滤方式、灭菌和完整性试验。

### 过滤器类型

我们以明显不同的类型来区分过滤器，通常分为膜过滤器和深度过滤器。深度过滤器将杂质截留在过滤器的骨架深处。杂质在移动过程中必须通过纤维骨架曲折的路径，最终因纤维阻挡而从介质中分离出来。由于深度截留，这种过滤器有十分强的载污能力并且能分离大量不同尺寸的杂质。深度过滤器用于除去粗颗粒，净化过滤，特别是用于保护最终膜过滤器的反渗透或去离子单元。深度过滤器能很大程度地提高膜过滤器的总通量。因此，在新项目中使用过滤工艺之前，通常要进行过滤能力试验来评估最佳的预滤-终滤器的组合，以实现过滤每升样品成本最低和得率最高。最初的过滤能力试验是用 47mm 的复合材料来进行试验的（用弹筒式过滤装置的扁平过滤盘）。在得到最佳的预滤截留能力和终滤孔径的组合后，用褶皱状的小型装置来获得合适的过滤器尺寸参数。过滤能力试验用成套的自动试验装置来完成，这套装置利用天平作为称量单元来测量

收集到的过滤物。通常天平与计算机系统相连，计算机系统使用的特定软件可以显示流量、总通量、压差图，并提供一份包括上述数据的报告。

正如深度过滤器在纤维骨架内截留杂质一样，膜过滤器属于表面截留过滤器，所以阻塞较快是明显的缺点。因此过滤行业为了在过滤装置中安装更有效的过滤面积，将膜打褶皱。但是由于有最大允许褶皱密度的限制，这样做也有它的局限性。一旦达到这个密度，唯一的选择是用预滤器或者用不同孔径的膜，这样可以分级截留，从而延长过滤器的使用寿命。一些膜过滤器的构造中有安装在弹筒式过滤器中的膜或深度过滤器中的预滤器。就降低硬件成本而言，这方便了过滤器的使用者，不需要额外的预滤器外罩。与深度过滤器相比，膜过滤器的孔径分布窄，这导致了较高的截留率。孔径大小有助于区分膜过滤器及其性能。通常灭菌级的过滤器标有  $0.2\mu\text{m}$ ，它能每平方米截留  $10^7$  个缺陷短波单胞菌。膜过滤器的另一个优点和必要性是都可以进行完整性试验。由于膜过滤器的作用主要是分离药液中的微生物，因此检测膜过滤器的瑕疵和缺陷是很关键的。

膜过滤器有非常宽的孔径范围（图 1）。改变膜的有效孔径使膜能用于反渗透（RO）过滤、纳滤（NF）、超滤（UF）和微孔过滤（MF）。反渗透膜广泛应用于水处理中，以去除水中的离子污染物。这些膜有相当小的孔径，因此需要进行良好的预处理来减少膜上的污垢，否则将降低使用寿命。反渗透膜能使用多种压力，在过滤器膜的逆流侧加压使液体通过孔。

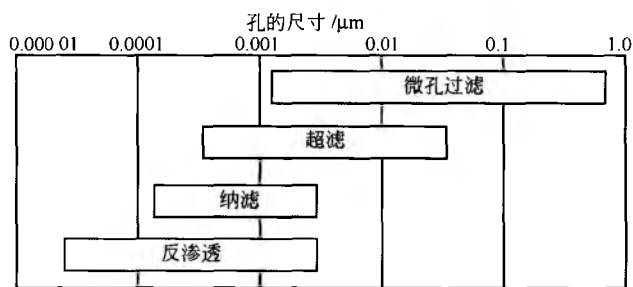


图 1 反渗透过滤、纳滤、超滤和微孔过滤中使用膜的典型孔径

对超滤器截留能力的分级不是通过孔径，而是通过 MWCO（截留相对分子质量），即被截留物的相对分子质量。超滤器系统多用于错流（切线流）系统。加载的流量直接越过真实的膜从而减少了膜的阻力。在压力条件的影响下，液体（渗入）穿透膜，剩下的液体再循环（截留）。超滤过滤器系统在药学下游加工中用于浓缩、透析过滤和脱除步骤中。微孔过滤能用于无流动过滤（过滤液垂直流

## G

向滤膜,过滤后与杂质分离)或切线流过滤模式。微孔过滤由于其切线流特征常用于下游加工过程中去除细胞或细胞碎片。微孔过滤膜区别于超滤膜的典型特征是膜横断面的形态。灭菌级过滤器的对称度通常从完全对称到稍微有点不对称。另外,超滤器则是高度不对称的,有一层紧密的包膜( $0.5\sim 10\mu\text{m}$ 厚)构成的保护层,并且有较大孔径的海绵状结构支撑(图2)。

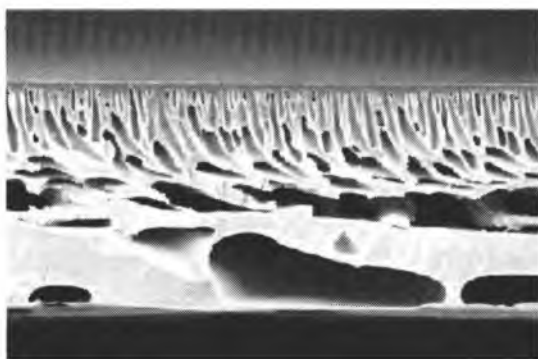


图2 超滤膜的表层结构 (A. G. Sartorius 供图)

微孔过滤在过滤中的应用相当广泛,从精细的预滤到无菌处理中使用的灭菌级过滤,灭菌级过滤通常是在药品最后工序或灌装前进行的最后一步。微孔过滤可用于空气、气体和液体净化或灭菌处理。为了不同领域的应用,开发了特定的膜结构和材料。

## 过滤器材料

有大量不同的深度过滤器和膜过滤器的材料应用于药品生产中。深度过滤器是纤维材料制成的,如聚丙烯、硼硅酸盐或玻璃纤维(图3)。硼硅酸盐和玻璃纤维材料有很强的吸附性,通常用于去除胶体物质,例如,从水中去除三氧化二铁或从糖溶液中去掉胶体混浊物。



图3 深度过滤器的无规则纤维骨架的扫描电子显微照片 (A. G. Sartorius 供图)

预滤器也可以用膜代替纤维状的深度过滤器材料。这种膜材料通常是纤维素或纯的醋酸纤维素的混合酯。纤维素混合酯的过滤器材料含有纯醋酸纤维素,它同样有很强

的吸附力。这样的预滤器有精确的截留等级,因此用于过滤尺寸分布较窄的杂质和(或)必须保护的灭菌级过滤器中,因为灭菌级过滤器在过滤过程中不能更换。在过滤中当膜预滤器被堵塞时可被替换,这是由于后面还有最终过滤器。

大多数商用的超滤和纳滤膜以及许多微孔过滤膜是由转相法制得的,将聚合物和适当的致孔剂一起溶解在适当的溶剂中,聚合物溶液在背衬上或独立制成薄膜,然后浸入一种非溶剂溶液中使聚合物沉淀。这种膜是聚酰胺类的,如尼龙、聚醚砜(PESU)或聚偏二氟乙烯(PVDF)。纤维素膜如硝酸纤维素、乙酸酯或再生纤维素被制成纤维素-水-溶剂混合物,涂布于传送带,通过加热隧道,经蒸发过程生产出具多孔结构的膜,如图4所示。

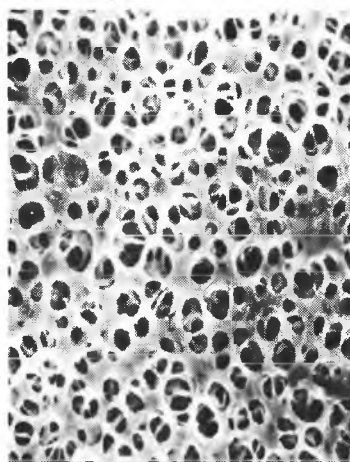


图4 醋酸纤维素的多孔结构 (A. G. Sartorius 供图)

其他成膜技术包括聚合物拉伸成膜,通常用于聚四氟乙烯(PTFE),当其还是柔软状态时使膜退火定形,以强化拉伸膜中的孔。这种拉伸工艺导致由原纤维互联形成的PTFE结有不同膜结构(图5)。

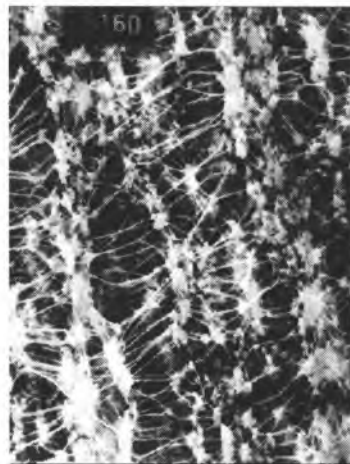


图5 聚四氟乙烯膜结构 (A. G. Sartorius 供图)



PTFE 膜高度疏水，因此用于空气过滤器中。空气过滤器必须高度疏水，以避免由于湿气或冷凝物造成水的阻塞，特别是在对这些过滤器进行蒸汽灭菌后。要是过滤器用于油罐换气中，以克服不耐真空罐的冷凝真空，水的阻塞作用可能不利于过滤器。如果过滤器不能使空气自由流进入槽内，可能会引起内爆。因此换气过滤器在用于这种场合时必须谨慎选择和测算。PTFE 膜也必须有高度的机械和热稳定性，因为这样的过滤器通常要使用几个月，要经受多次的蒸汽灭菌。特别是在大规模发酵过程中，这些过滤器要使用几个月的时间，以避免发酵罐或生物反应器细胞系不必要的污染。

最后，径迹蚀刻微孔滤膜由像聚碳酸酯和聚酯这样的聚合物制成，在聚合物表面进行电子轰击。轰击导致“激

活的轨道”，这样聚合物主链上的化学键被打断了。然后，受辐照的膜被放入蚀刻浴（如碱性溶液），在蚀刻浴中受到破坏的聚合物印迹优先受到蚀刻，由此形成了圆筒状的孔。在输照器中的停留时间决定了孔的密度，在蚀刻浴中的停留时间决定了孔径。用这种方法制成的膜通常有圆筒状的孔并且孔径分布很窄，但整体孔积率较低，而且有两次击中的风险，也就是蚀刻孔变宽，且造成微粒的渗透。这样的过滤器膜常用于电子行业中过滤高纯水。

表 1 列出了可用的不同膜聚合物，根据聚合物的性质列出了它们的优缺点。从表中可知，没有一种聚合物适合所用用途。因此，在选择适当的过滤器滤芯前必须对过滤器膜和过滤器性能进行测试。

表 1 各种膜聚合物的优点和缺点

膜材料	优 点	缺 点
醋酸纤维素	不易发生非特异性吸附（不污染），流速快和总通量高	适用 pH 范围窄，不能干热灭菌
硝酸纤维素（硝化纤维）	良好的流速和总通量	容易发生非特异性吸附，适用 pH 范围窄，不能干热灭菌
再生纤维素	极少的非特异性吸附（不污染），流速很快和总通量高	适用 pH 范围窄，不能干热灭菌
改良的再生纤维素	极少的非特异性吸附（不污染）；中等流速和总通量，特别适用于难过滤的溶液，适用 pH 范围广	超滤器不能干热灭菌
尼龙 66	良好的溶剂相容性，良好的机械强度，广泛的 pH 兼容性，可干热灭菌	高非特异性蛋白吸附，不耐热水，中等的流率和总通量
聚碳酸酯	良好的化学相容性	中等流速，低总通量，难以生产
聚醚砜	高流速和高总通量，适用 pH 范围广	中等或低的非特异性吸附，由表面修饰决定；溶剂相容性有限
聚丙烯	良好的耐化学腐蚀性，高机械强度	疏水材料，由于疏水性相互作用而有高非特异性吸附
聚砜	高流速和总通量，适用 pH 范围广	中等或高的非特异性吸附，溶剂相容性有限
聚四氟乙烯	良好的耐化学腐蚀性，高机械强度	疏水材料，由于疏水性相互作用而有高非特异性吸附，高成本过滤材料
聚偏二氟乙烯	低非特异性吸附，可干热灭菌，良好的溶剂相容性	中等的流速和总通量；疏水基质，经化学表面处理成亲水，可能由于化学攻击而丢失亲水性表面修饰；高成本过滤材料

过滤器结构

过滤器有多种结构、有效过滤面积和构造。根据不同的工艺，选择最适合使用目的过滤器结构和配置。最常用的反渗透过滤器是管状的装置，所谓的螺旋形模块是由在这种装置支撑结构内膜的螺旋状结构而来的。超滤系统有

螺旋形模块、中空的纤维或盒状装置。具体选用哪种结构取决于超滤装置的要求和目的。与不同的膜材料相似，超滤装置的结构必须通过特定应用中进行评价来达到设备最合适的功能。微孔过滤器和深度过滤器可以是透镜状或是片状的，但主要是圆筒状的不同尺寸和过滤面积的过滤器滤芯，从很小规模的 300cm<sup>2</sup> 到大规模的 36m<sup>2</sup> 的装置。一个 10in 高的圆筒状过滤器滤芯见图 6。



G

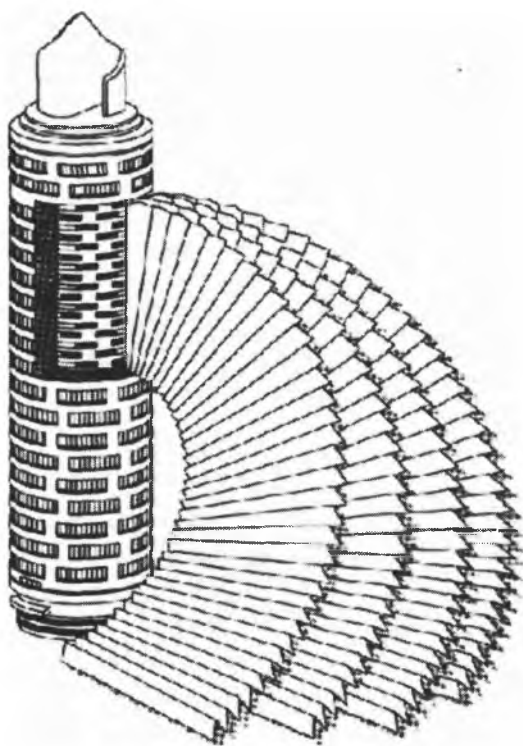


图6 10in高的含打褶膜和保护棉网的标准滤芯  
(A. G. Sartorius 供图)

这种滤芯装在不锈钢过滤器罩中,将双O形圈接头塞进外罩底板凹处,然后装配和连接过滤器罩,用水注满后蒸汽灭菌,也可以通过在线通入蒸汽或用高压锅灭菌。如果没有过滤器罩或不是必选,则可以使用一次性过滤器。滤芯被焊入塑料罩,通常是聚丙烯材质,每次过滤后丢弃。一次性过滤装置的优点在于减少了清洗验证的工作,使用者不接触滤过物。这种一次性过滤装置可以高压灭菌,但不能用在线通入蒸汽来灭菌,这是因为外罩聚合物的压力-温度比例。通常这种一次性过滤器用于大规模过滤测试,因为使用方便可得到一条有效过滤面积。

## 过滤器验证

制药工艺是要经过验证的,以确保在设定的指标规范内生产出可重现的产品。在使用过程中对过滤器的验证也同样重要,特别是灭菌级过滤器,通常是用于药品生产的最后工序或灌装前。在1985年有关工艺验证一般原则的指导原则中<sup>[8]</sup>,以及用无菌操作生产无菌药物制剂的指导原则(1987)中<sup>[2]</sup>,FDA明确指出灭菌产品的生产商需要对无菌工艺进行验证。

灭菌级的过滤器通过细菌挑战性试验来确定。这项试验在精确的参数和指定溶液条件下进行(ASTM F838—83)<sup>[3]</sup>。总之,现在FDA仍要求无论什么工艺,液体或生物负载,都要有证据证实无菌级过滤器能进行无菌过

滤<sup>[6,9]</sup>。这就意味着挑战性试验必须用实际药品和工艺参数进行试验,如果不是实际药品,或是比缺陷短波单胞菌小的生物负载也必须进行细菌挑战性试验。产品须进行细菌挑战性试验有三重原因;第一,必须测试产品和工艺参数对微生物的影响。因为产品高渗可能使生物体皱缩,或者可能延长处理时间。第二,必须检测过滤器对产品和参数的相容性。滤过物不能因过滤而出现任何降解迹象。另外,其他的保证是所使用的过滤器能经受工艺参数的影响,如压力脉冲,一旦发生,过滤器的性能不应受到影响;第三,在液体过滤中涉及两种分离机制,即滤网截留和吸附络合截留<sup>[1,8,10~12]</sup>。在滤网截留中,最小的颗粒和生物体被膜结构中最大的孔截留。理想状态是无论工艺参数怎样,杂质都会被截留。吸附络合截留则有赖于过滤条件。小于实际孔径的杂质可能穿透后被吸附而附着于孔壁。用吸附能力强的过滤器材料可以增强这种作用,例如,用玻璃纤维作为预过滤器或用聚酰胺作膜材料。然而某些液体性质可能降低吸附效果,这可能意味着生物体能穿过。无论液体是否具有这种性质,是否降低吸附络合效果,最终是否穿透,都必须通过特定产品的挑战性试验来评估。表2说明了这两种分离机制的优点和缺点。

表2 分离机制的优点和缺点

截留机制	优点	缺点
滤网截留	在产品性能最坏时可靠 在高流量和压力条件下可靠分离 可检测出阻断,即气体排出 无非特定的吸附,所要产品的损失最小,几乎无吸附污垢	仅在特定孔径等级时截留
吸附络合	可能截留小于过滤器标示孔径的微粒 可以分离胶状物 有时能除去热原	易受产品特性影响 不同的工艺条件中分离的微粒可能脱落 活性位点的饱和状态不能检测出,也无预警 非特定吸附将导致产品损失和污染 就绝对分离而言可靠性低

在进行一项产品的细菌挑战性试验前,必须确保液体产品不包含任何对抑制微生物试验有不良影响的杀菌或抑菌剂。利用生存性试验可以进行检测。一定量生物负载的生物体被接种到待过滤的产品中,在指定的时间测定生物负载值,如果液体的性质使生物负载量减少,则需要使用不同的细菌挑战性试验模型<sup>[7]</sup>。如果负载量的降低是一个缓慢的过程,则可用较高生物负载来进行试验,必须牢记的是在处理结束时必须达到每平方厘米 $10^7$ 的水平。如果死亡率太高,要么去除有毒物质,要么改变产品的性质。



这种细菌挑战性液体称为空白对照。另外一种方法是在特定的工艺参数下使液体产物循环通过过滤器，只要实际处理时间允许，然后用水彻底冲洗过滤器，进行 ASTM F838—38 中描述的细菌挑战性试验。然而这种细菌挑战性试验过程或多或少也是一种过滤器相容性试验。

除了细菌挑战性试验，还必须做可提取物或微粒释放试验<sup>[7,8,13]</sup>。对于单个过滤器，过滤器生产商的可提取测量方法和最终数据是有用的。然而，根据工艺条件和所使用的溶剂，必须进行明确的可提取试验。通常只用在药品中所用的溶剂而不用药物本身进行试验，因为药品在测试过程中通常会掩盖可提取物。这样的测试由过滤器生产商用复杂的分离和检测方法来进行验证，包括气质联用、傅里叶转换红外光谱学和反相高效液相色谱。必须用这些方法是因为个别成分会从过滤器中释出，所以必须对其进行定性和定量。过滤器生产商进行的详细研究表明，没有大量可提取物（范围从每 10in 滤芯十亿分之一到最大百万分之一）的释放，也没有毒物质被监测到<sup>[13]</sup>。

在无菌过滤中，关键是过滤微粒，特别是可注射的微粒。美国药典 24 版和英国药典规定了不同粒径的微粒的特定限度。因此必须符合该限度，并且灭菌级过滤器的微粒释放必须满足这些要求。过滤器要进行常规试验，通过激光粒子计数器来评价滤液。这些测试也在一定操作条件下对实际产品进行，以证明除了在特定操作条件下，这些产品不会导致滤液中颗粒数的增加。

另外，某些产品由于吸附会降低得率或有效成分<sup>[14,15]</sup>。例如，防腐剂洁尔灭或氯己定能被特殊的过滤器膜吸附。这样的膜需要事先用防腐剂使其饱和，以防止实际产品中防腐剂的损失。防腐剂的损失可能是不利的，如在隐形眼镜溶液，因为这种溶液需要长期使用。与之相似的还有，在生物溶液中所需蛋白质的吸附也会造成问题。在操作过程中要得到这种蛋白质最佳的得率，需要进行吸附试验来寻找最佳的膜材料和过滤器结构。

用实际产品作为湿润剂进行完整性试验需要评价产品完整性试验的限度<sup>[7,17]</sup>。由于表面张力或溶解度，产品会影响测量完整性试验的试验值。例如，较低的表面张力将改变起泡点值到一个较低压力并导致假阴性试验。产品中气体的溶解度可能降低，这将导致假阳性扩散流试验。因此，根据过滤器生产商制订的标准，必须确定产品作为湿润剂和水的润湿值相互关系。这种相互关系要用三批过滤器的至少三个过滤器来进行测定。根据产品及其差异，用一批或三批产品来测定这种相互关系。自动完整性试验机可以提高这种相互关系的准确性。这些试验机通过最高精确度和灵敏度来测量，并且不像手动试验那样依赖人的判断<sup>[7]</sup>。多点扩散试验可以测试过滤器的性能，特别是用起泡点描绘了完整的扩散流图。对于水润湿的完整性测试的个别图现在能与产品水分试验和可能的估计值改变相比较。另外，多点扩散试验为建立改良的统计学基础提供了可能，用它来测定产品水分与水润湿的限度<sup>[16,17]</sup>。

## 过滤器完整性试验

灭菌级过滤器要求通过测试来保证过滤器是完整的，并能达到无菌过滤的目的。这样的过滤器测试称为完整性试验，并在过滤前后进行。如果在进行过程中过滤器没有经过完整性试验，则不能认为是灭菌级过滤。这已经在一些指导原则中确定了，并且推荐过滤前后进行完整性试验。这对液体和空气过滤器都适用。

下面为这些指导原则中的例子：

(1) FDA 关于用无菌加工法生产灭菌药品的指导原则 (1987)：通常，过滤器的完整性试验是在过滤器单元组装后、使用前进行的。更重要的是，在过滤器使用后，应当做这项试验以检测任何在过滤过程中可能出现的过滤器的渗漏或穿孔。

(2) 关于检测高纯水系统的指导原则，关于检测注射剂冻干法的指导原则以及现行药品生产管理规范文件 212.721 中有关过滤器的叙述如下：

a. 所有空气过滤器在安装后应该证实其完整性，并应在整个使用过程保持完整。如 212.83 中所说明的，应建立并遵守一个足以监测过滤器完整性的书面试验计划，并记录保存结果。

b. 溶液过滤器应该灭菌并进行无菌装配，溶液过滤器的完整性应该由合适的试验来证实，在任何大体积注射液过滤操作前以及在操作结束后、过滤器丢弃前都要进行完整性试验。如果过滤器的装配导致过滤操作结束后不能通过完整性试验，则经过过滤的所有过滤物都应弃去。假设额外的再过滤时间不会导致总操作时间超过 212.111 中规定的时限，弃去的物质可用经过完整性试验证实的过滤器进行再过滤。如 212.188 (a) 的要求，每项测试的结果都应该记录并保存。

(3) ISO 13408-1 第一版，1998-8-1，卫生保健产品的无菌处理，第一部分：一般要求；17.11.1 部分调查，过滤前后的完整性试验数据和（或）过滤器罩装配：

a. 20.3.1 一个经验证的所使用的过滤器物理完整性试验应该在使用后不妨碍过滤器罩装配的情况下进行。过滤器制造商的试验指导或建议可以用来作为验证方法的基础。过程过滤器的物理完整性试验应该在操作条件允许时在使用前进行。“扩散流”、“压力维持”和“起泡点”是可接受的物理完整性试验。

b. 20.3.2 过滤器或其罩在适应灭菌和气、液流（包括压力冲击和流量改变）时确定其保持完整性的能力。

(4) 美国药典 23 版，1995 年，第 1979 页。制药 GMP 指南（橙色指南，英国，1983）：

PDA（非内服药协会），技术报告第 26 号，液体的灭菌过滤（1998 年 3 月）。

完整性试验，例如扩散流、压力维持、起泡点或水侵入试验，是非破坏性试验，与每平方厘米  $10^7$  个缺陷短波单胞菌的破坏性抑菌试验是相关的<sup>[1,8]</sup>。根据这些细菌挑战

## G

性试验,建立了特殊的完整性试验限度,在过滤器制造商的文献中有描述和记载。这些限度是以水为基准的,即用水作为润湿介质来进行完整性试验的相关。如果用不同的过滤器过滤润湿液,如用过滤器或膜结构,完整性试验的限度会改变。完整性试验方法由过滤器的表面积、膜聚合物、润湿液、膜孔径和试验中使用的气体来决定。润湿液可能有不同的表面张力,可能降低或升高起泡压力。使用不同的试验气体可能提高扩散气流。因此必须建立适当的过滤器认证来测定不同过程的完整性试验限度。

### 1. 起泡点试验

微孔膜将通过吸液(即液体)遵循毛细管上升的法则均匀流动,用润湿液来填充其孔。在上游侧施加空气压力

将多余的液体强制压过过滤器孔。压力逐渐增大,在某个特定的压力水平,液体将率先被强制通过最大的孔,施加的空气压力  $p$  和孔的直径  $d$  间具有相反关系,起泡点的公式表述如下:

$$p = \frac{4\gamma \cos\theta}{d}$$

式中:  $\gamma$  为液体的表面张力;  $\theta$  为润湿角;  $p$  为最大孔处无液体时的上游压力;  $d$  为最大孔的直径。

当润湿液从最大孔中排出时,在过滤器系统的下游侧将检测到大量的气流(图7)。起泡点试验决定了过滤器膜的孔径,即孔越大,起泡点压力越低。因此,过滤器生产商以最低允许的起泡点来规定了起泡点限度。在完整性试验中,起泡点试验必须超过设定的最小起泡点。

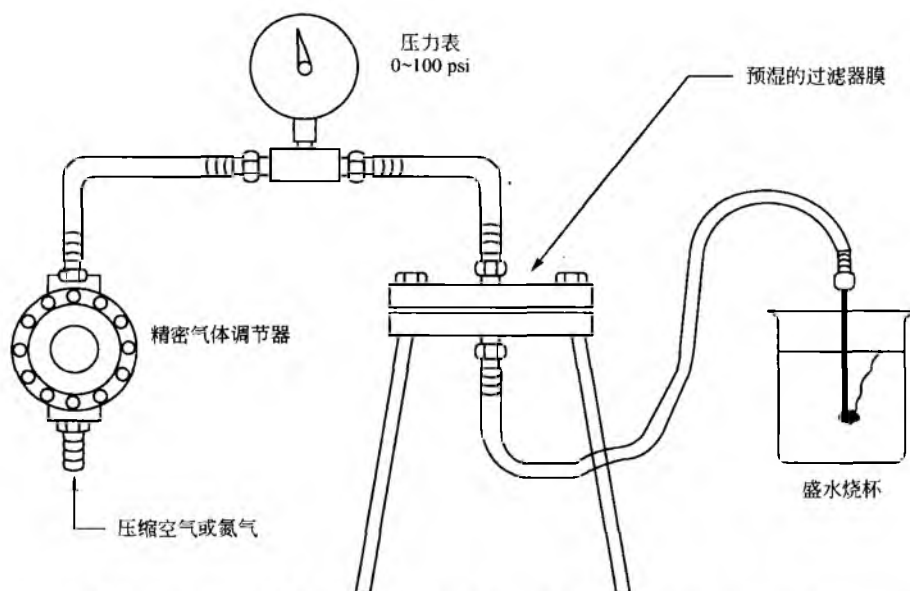


图7 起泡点试验装置指南(从技术报告第26号转载,液体灭菌过滤,© 1998 PDA)

### 2. 扩散试验

当有差压时,完全湿润的过滤器膜有一液体层,在液体层的另一面有遵循 Fick 定律的扩散气流(图8)。这个压力称为试验压力,通常指定为起泡点压力的80%。在该过程中,有关因子的试验性说明,Reti<sup>[18]</sup>对 Fick' 公式的积分形式进行了简化:

$$N = \frac{DH(p_1 - p_2)\rho}{L}$$

式中:  $N$  为透过率(单位时间气体的摩尔数);  $D$  为液体中气体的扩散系数;  $H$  为气体的溶解度系数;  $L$  为膜中液体的厚度(若膜孔中完全充满液体时等于膜厚度);  $p_1 - p_2$  为差压;  $\rho$  为膜无效体积,其膜孔率通常大约为80%。

孔的大小只是间接成为方程的一部分,它们合并后构成  $L$ ,即液层的厚度,膜约有80%的孔。裂缝的关键性测量是液层的厚度。因此,由于上游侧提高试验压力,裂缝

或过大的孔可以由液层的变薄测量出。孔和裂纹可能不至于大到影响起泡点,但是试验压力使液层变薄,当足够薄时将导致气流升高。因此,过滤器制造商指定了扩散流完整性试验限度为最大允许的扩散值。裂缝越大或裂缝的合并越大,扩散流也就越大。

### 3. 压力维持试验

压力维持试验是扩散气流试验的一种变形<sup>[19]</sup>。除了当到达规定压力就关闭压力源以外,试验的装备和扩散试验一样(图9)。在储罐中,压力衰变是时间的函数,可用精密的压力计或压力转换器来进行观测。

压力的降低可以有两个来源:①通过润湿过滤器的扩散损耗。因为储罐中上游侧的压力是恒定的,压力的逐步减少正如润湿的膜中始终发生的扩散。②压力的衰减来源可能是过滤器系统装置的泄漏。

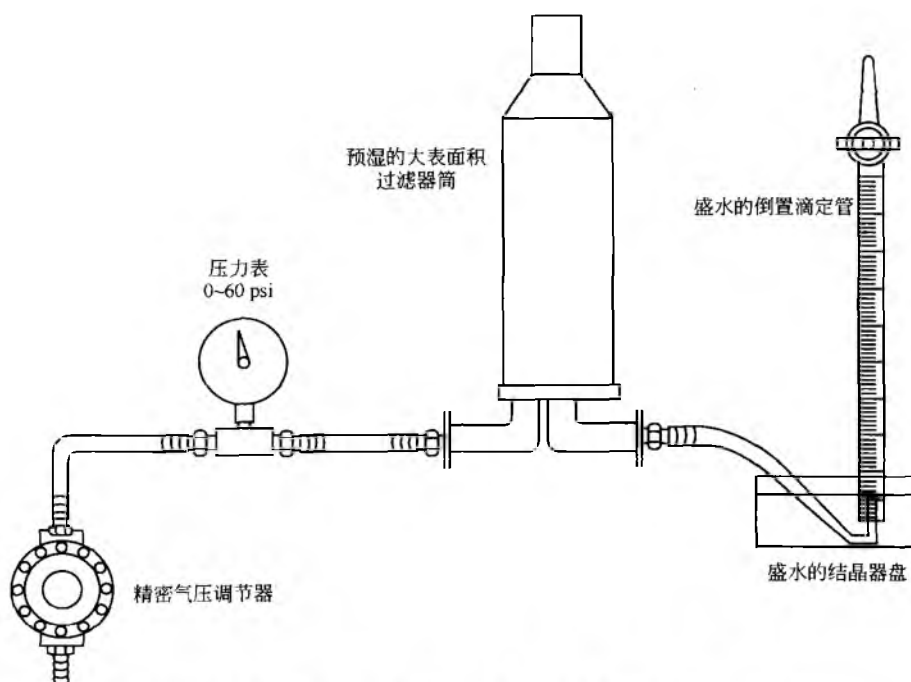


图8 扩散流试验装置指南 (从技术报告第26号转载, 液体灭菌过滤, © 1998 by PDA)

影响压力维持试验测量的重要因素是过滤器系统的上游空气容积。必须首先测定这个容积以明确最大允许的压力降值。上游容积越大, 压力降越小, 上游容积越小, 压力降越小; 这也是提高试验灵敏度的方法, 如果发生变化, 这也是增加温度影响的方法。过滤器制造商指定了最大允许压力降值。

#### 4. 水侵入试验

水侵入试验仅用于疏水性通风和空气膜过滤器<sup>[20~23]</sup>。疏水性过滤器筒罩的上游侧注满水。水将不会穿过疏水膜。然后在过滤器罩上游侧水层的上方施加规定的空气或氮气试验压力。这些由自动完整性试验器完成。过滤器制造商推荐, 在外加压力下, 通过调节筒上的褶皱的位置, 使压力在一段时间内保持恒定。当压力降由此稳定后, 开始测试, 正如用自动测试仪测量一样, 上游更大的压力降对气体加压, 表明水开始侵入到最大的(疏水)孔, 水不可被压缩。自动完整性试验器足够灵敏, 能测到压力降。这个被测得的压力降被转换成测得的侵入值, 并与设定的侵入限度做比较, 侵入限度与细菌挑战性试验相关。和用扩散流试验一样, 过滤器制造商指定了最大允许水侵入值。超过这个值, 疏水性膜过滤器被定义为不完整的。

#### 参考文献

1. Filtration in the Biopharmaceutical Industry; Meltzer, T. H., Jornitz, M. W., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1998.
2. FDA, Center for Drugs and Biologics and Office of Regulatory Affairs. Guideline on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing; 1987.
3. Standard Test Method for Determining Bacterial Retention of Membrane Filters Utilized for Liquid Filtration, Standard F838-83; Revised 1988 American Society for Testing and Materials (ASTM), 1983.
4. Meltzer, T. H.; Jornitz, M. W.; Mittelman, M. W. Surrogate Solution Attributes and Use Conditions; Effects on Bacterial Cell Size and Surface Charges Relevant to Filter Validation Studies. PDA J. Sci. Technol. Jan/Feb 1998, 52 (1).
5. Levy, R. V. The Effect of PH, Viscosity, and Additives on the Bacterial Retention of Membrane Filters Challenged With *Pseudomonas Diminuta*. In Fluid Filtration: Liquid; American Society for Testing and Materials (ASTM): Washington DC, 1987; II.
6. Validation of Microbial Retention of Sterilizing Filters; PDA Special Scientific Forum; Bethesda, MD, July 1995; 12-13.
7. Technical Report No. 26, Sterilizing Filtration of Liquids. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1998, 52 (S1).
8. FDA, Center for Drugs and Biologics and Office of Regulatory Affairs. Guideline on General Principles of Process Validation; Washington, DC, September 1985.
9. Jornitz, M. W.; Meltzer, T. H. Sterile Filtration—A

G

- Practical Approach; Marcel Dekker, Inc.; New York, 2001.
10. Tanny, G. B.; Strong, D. K.; Presswood, W. G.; Meltzer, T. H. Adsorptive Retention of *Pseudomonas Diminuta* by Membrane Filters. *J. Parent. Drug Assoc.* 1979, 33, 40—51.
  11. Emory, S. F.; Koga, Y.; Azuma, N.; Matsumoto, K. The Effects of Surfactant Types and Latex-Particle Feed Concentration on Membrane Retention. *Ultrapure Water* 1993, 10 (2), 41—44.
  12. Osumi, M.; Yamada, N.; Toya, M. Bacterial Retention Mechanisms of Membrane Filters. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1996, 50 (1), 30—34.
  13. Reif, O. W.; Sölkner, P.; Rupp, J. Analysis and Evaluation of Filter Cartridge Extractables for Validation in Pharmaceutical Downstream Processing. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1996, 50, 399—410.
  14. Hawker, J.; Hawker, L. M. Protein Losses During Sterilization by Filtration. *Lab. Practises* 1975, 24, 805—814.
  15. Brose, D. J.; Henricksen, G. A Quantitative Analysis of Preservative Adsorption on Microfiltration Membranes. *Pharm. Tech Europe* 1994, 42—49.
  16. Waibel, P. J.; Jornitz, M. W.; Meltzer, T. H. Diffusive Airflow Integrity Testing. *PDA J. Pharm. Sci. Tech.* 1996, 50 (5), 311—316.
  17. Jornitz, M. W.; Brose, D. J.; Meltzer, T. H. Experimental Evaluations of Diffusive Airflow Integrity Testing. *PDA J. Parenter. Sci. Technol.* 1998.
  18. Reti, A. R. An Assessment of Test Criteria in Evaluating the Performance and Integrity of Sterilizing Filters. *Bull. J. Parenter. Drug Assoc.* 1977, 31 (4), 187—194.
  19. Madsen, R. E., Jr.; Meltzer, T. H. An Interpretation of the Pharmaceutical Industry Survey of Current Sterile Filtration Practices. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1998, 52 (6), 337—339.
  20. Jornitz, M. W.; Waibel, P. J.; Meltzer, T. H. The Filter Integrity Correlations. *Ultrapure Water* 1994 Oct., 59—63.
  21. Meltzer, T. H.; Jornitz, M. W.; Waibel, P. J. The Hydrophobic Air Filter and the Water Intrusion Test. *Pharm. Tech.* 1994, 18 (9), 76—87.
  22. Tarry, S. W.; Henricksen, G.; Prashad, M.; Troeger, H. Integrity Testing of EPTFE Membrane Filter Vents. *Ultrapure Water* 1993, 10 (8), 23—30.
  23. Tingley, S.; Emory, S.; Walker, S.; Yamada, S. Water-Flow Integrity Testing: A Viable and Validatable Alternative to Alcohol Testing. *Pharm. Tech.* 1995, 19 (10), 138—146.

(王娟 柴瀚森 译)

# 含有明胶的制剂的溶出特性改变

Saranjit Singh

Sariputta P. Pakhale

National Institute of Pharmaceutical Education and Research, Nagar, India

## 引言

溶出参数和溶出曲线是口服固体制剂的一个很重要的技术指标。即使在储存过程中,仍要求溶出特性保持不变或在技术指标范围之内,该指标是参考生物等效性、生物利用度和临床研究所观察到的结果制定的。若产品按照标签上的方法储存时发现溶出不稳定,那么产品可被拒收和召回。在这方面,药品的生产者有责任不仅从伦理、道德和法律上,而且由于经济因素也要保证药物在储存期限内能从制剂中可重复地释放。

溶出特性随时间改变的问题在含有明胶的制剂中特别典型。生产者经常面临这个问题,所以它值得关注。幸运的是,从这个问题第一次被意识到开始已经有了很多的理解。本章的目的是介绍最近的发展和文献的综述使读者正确地看待这个问题。

## 成膜问题

明胶能被大多数蛋白水解系统水解成氨基酸,而且它能和酸、碱、醛、醛糖、阴阳离子聚合物、电解质、金属离子、增塑剂、防腐剂 and 表面活性剂反应。甚至,暴露在极端的湿度、温度和(或)光照的条件下能导致其明显的变化。

明胶制剂暴露在环境因素和(或)化学催化剂下会形成膨胀的、很薄的、牢固的、有弹力不溶于水的膜,也叫表膜(pellicle)。这层膜就像一个屏障限制了药物的释放。一般的搅拌不容易破坏这层膜,所以外层含明胶的制剂的溶出特性和Q值经常跌至排斥点<sup>[1,2]</sup>,图1就是个例子<sup>[3]</sup>。

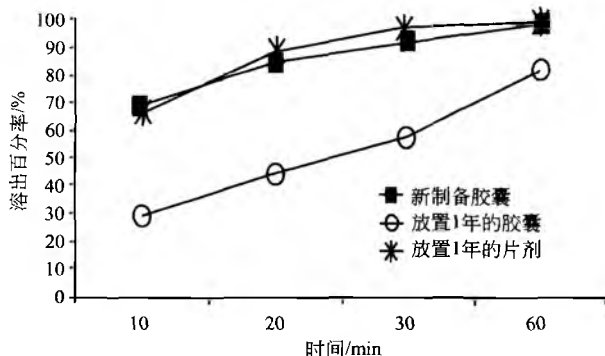


图1 新制备的胶囊、放置1年的胶囊和片剂的溶出曲线<sup>[3]</sup>。  
放置1年的胶囊的溶出速率明显降低

该图比较了新制备的明胶胶囊、放置一年的胶囊和不含明胶的片剂的溶出行为。很明显,放置一年的胶囊的溶出速率下降很快。

幸运的是,几项研究显示明胶制剂溶出速率的下降问题对药物体内的生物利用度只有很小的影响<sup>[4~6]</sup>。图2显示了新制备的药物胶囊和那些在室温下存放11个月的胶囊的溶出度和生物利用度<sup>[7]</sup>,它表明体外溶出度下降50% [图2(a)],但在 $c_{max}$ 和 $t_{max}$ 的值却没有明显变化 [图2(b)]。

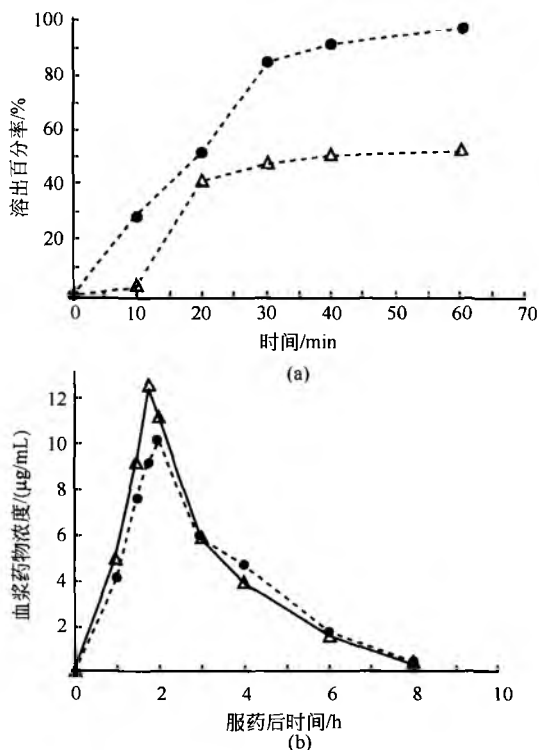


图2 高剂量水溶性药物胶囊的溶出度(a)和生物利用度(b)的比较<sup>[7]</sup>。●新制备的胶囊;△室温储存11个月的胶囊,表明长期储存会影响药物溶出,但生物利用度影响不大

体内影响的减弱主要由于在胃肠道中的酶对变性明胶的消化作用。这就是为什么这个问题在20世纪60年代以前用人工胃肠液作为溶出介质没有暴露出来的原因。许多文献研究表明当产品在含酶的溶出介质中测试时,溶出的副作用大多被消除了<sup>[8~12]</sup>。图3显示了酶对布洛芬明胶硬胶囊的溶出下降的影响。

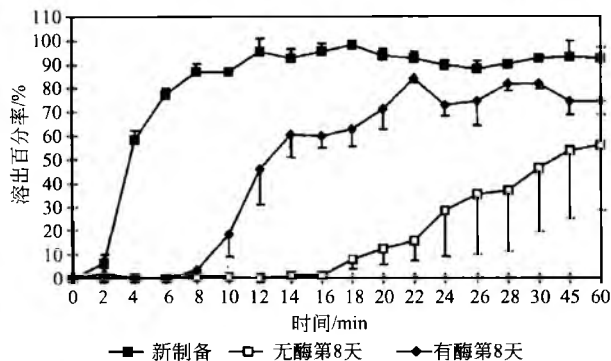


图3 新制备和光照下40℃/75%RH放置8天的硬明胶胶囊的释放曲线。有酶存在的硬明胶胶囊溶出明显改善

研究显示如果酶能够减低高度交联的明胶壳对药物分子的屏障作用,那么含酶的溶出试验能避免生物等效性研究的时间和费用。相应的,明胶产品要通过特别的两种溶出试验的评价<sup>[2]</sup>。测验方法最终由FDA的工业明胶胶囊工作小组建立,USP也是参与者,已被第25版的USP收录。测试包含了在不含酶的介质的初步溶出,与品种专论中一致,随后在含酶的介质中进行第二次溶出。推荐两种不同的酶-胃蛋白酶和胰酶,根据溶出介质不同的pH进行选择。当品种专论中建议用水或pH小于6.8的介质作为溶出介质时,纯的胃蛋白酶的活性为每1000mL含75万单位。当介质的pH为6.8或更高,那么已使用胰酶,且用量为每1000mL小于0.05g。最近正在对USP关于不溶性药物的两重试验进行扩展研究,对联合使用胃蛋白酶与非离子表面活性剂进行了探讨<sup>[8]</sup>。

不过,表面膜形成和溶出速率的下降问题仍然很重要,如果问题很严重,会影响药物的生物利用度。有报道说苯妥英胶囊暴露在高湿环境中,溶出速度下降且临床疗效也降低<sup>[14]</sup>。而且,除了USP以外,酶测试在其他药典中是非正式的,所以如果未能满足正常的药典溶出条件,产品仍有可能被召回。

## 表面膜形成的化学机理

明胶是来自胶原的一种水溶性混合蛋白,它是一种线形高分子,相对分子质量为15 000~25 000。蛋白片段包括许多氨基酸,通过酰胺键相连。这些氨基酸包括甘氨酸(25.5%)、脯氨酸(18.0%)、羟脯氨酸(14.1%)、谷氨酸(11.4%)、丙氨酸(8.5%)、精氨酸(8.5%)、天门冬氨酸(6.6%)、赖氨酸(4.1%)、亮氨酸(3.2%)、缬氨酸(2.5%)、苯丙氨酸(2.2%)、苏氨酸(1.9%)、异亮氨酸(1.4%)、甲硫丁氨酸(1.0%)、组氨酸(0.8%)、酪氨酸(0.5%)、丝氨酸(0.4%)、胱氨酸(0.1%)和半胱氨酸(0.1%)<sup>[1]</sup>。表面膜的形成主要是源于氨基酸的三维结构,特别是赖氨酸。一些报道显示组氨酸和精氨酸也

有参与。

结构变化可由三种机制产生<sup>[1]</sup>:第一是赖氨酸残基的氧化脱氨作用,赖氨酸残基都很接近,形成末端乙醛基。乙醛基与相邻的赖氨酸自由ε-氨基基团相作用产生亚胺,随后这个亚胺经过一系列的羟醛缩合反应形成含有吡啶环的交联产物。图4描述了这种机制。第二种机制是赖氨酸的ε-氨基和外部的乙醛基反应,乙醛基为制剂中的杂质,或在恶劣的环境产生。这种反应产生一种羟甲胺衍生物,它失去水形成一种阳离子亚胺,后者再与另一个羟甲胺赖氨酸残基形成双亚甲基醚,最终重排形成一个在两个赖氨酸的ε-氨基之间的亚甲基链,导致交联。第三种机制是形成缩醛胺,乙缩醛的一种胺形式,由阳离子的亚胺中间体和自由氨基反应产生。反应时周围环境的pH起了很大作用。后两种机制显示在图5中。

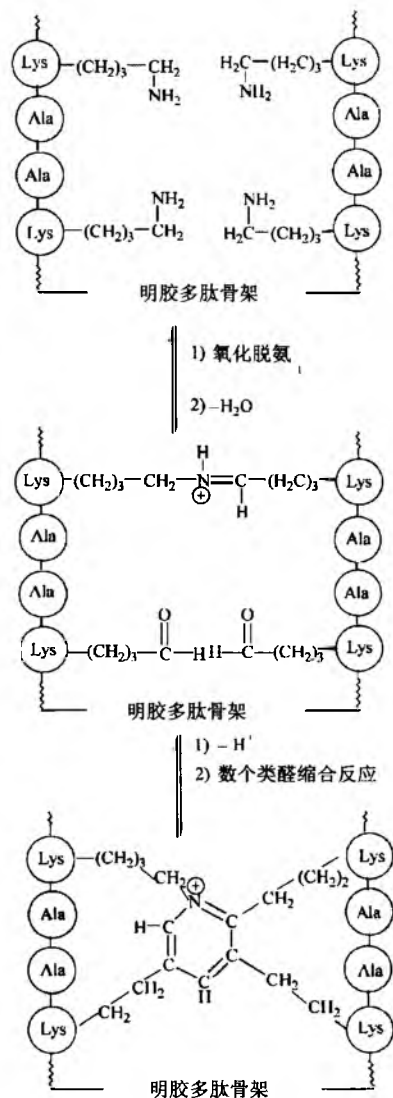
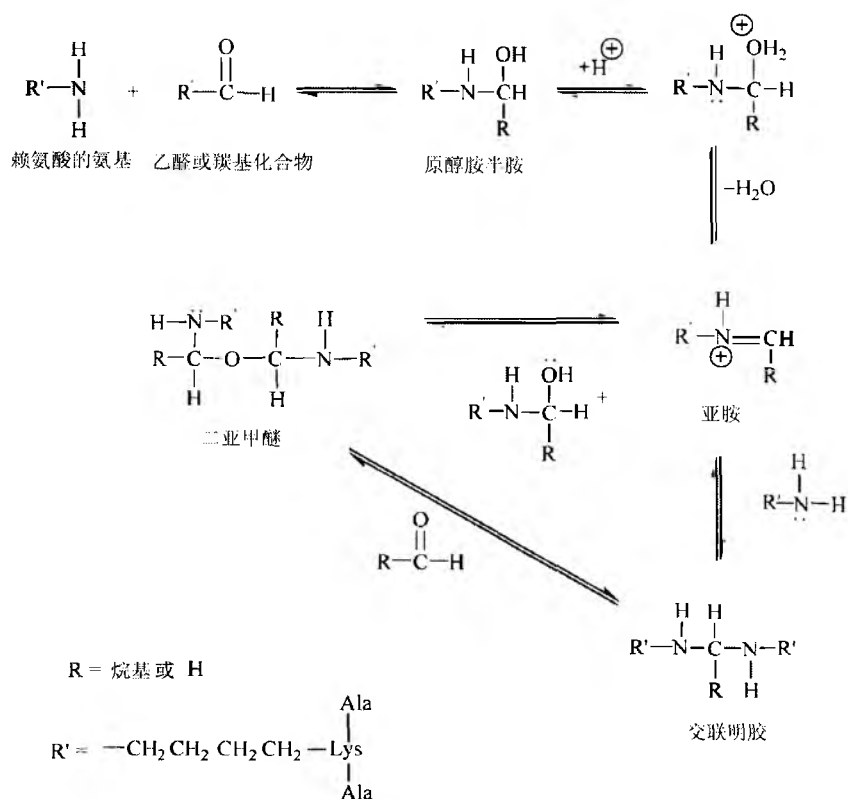


图4 赖氨酸游离氨基的交联反应<sup>[1]</sup>

图5 通过形成阳离子亚胺导致明胶交联<sup>[1]</sup>

明胶多肽的交联可能发生在同种多肽链之间，通过桥联（链内，分子内的交联）或两个相邻肽链的氨基酸残基交联（链间和分子间的交联）实现<sup>[1]</sup>。链的结构显示在图6中。结果，原先微粒间的键消失了，被新的键取代，导致制剂有了不同的孔隙度和孔结构。所以我们就观察到与原先不同的释放模式<sup>[7]</sup>。

## 改变溶出行为的明胶产品类型

那些由于表面膜化而导致溶出行为改变的产品都是因为外层含有明胶。典型的制剂是软硬明胶胶囊和糖衣片剂。

表1列举了一些有溶出问题的硬明胶胶囊的例子。图7描述了有这样行为的一个例子。硬胶囊一般含13%~16%的水充当增塑剂和增强柔软度。水分在12%~18%变化不会明显影响壳的结构，然而，低于12%时，壳会变脆也容易破裂。胶囊在水分达18%以上会变得潮湿、柔软和变形。而且，水分会从壳转移到潮解和引湿的内容物，如组分易风化，内容物的水分也会反过来转移到壳，使胶囊变得又软又黏。水分在胶囊内部和壳之间的转移被认为是导致药物释放延迟和改变的重要原因<sup>[22]</sup>。比如，Geogarakis等<sup>[23]</sup>发现氨基青霉素三水合物硬明胶胶囊在不同湿度（50%~90%）的储存条件下有明显的溶出延迟。这是由于水分从壳转移到内部引起药物聚集和结块。

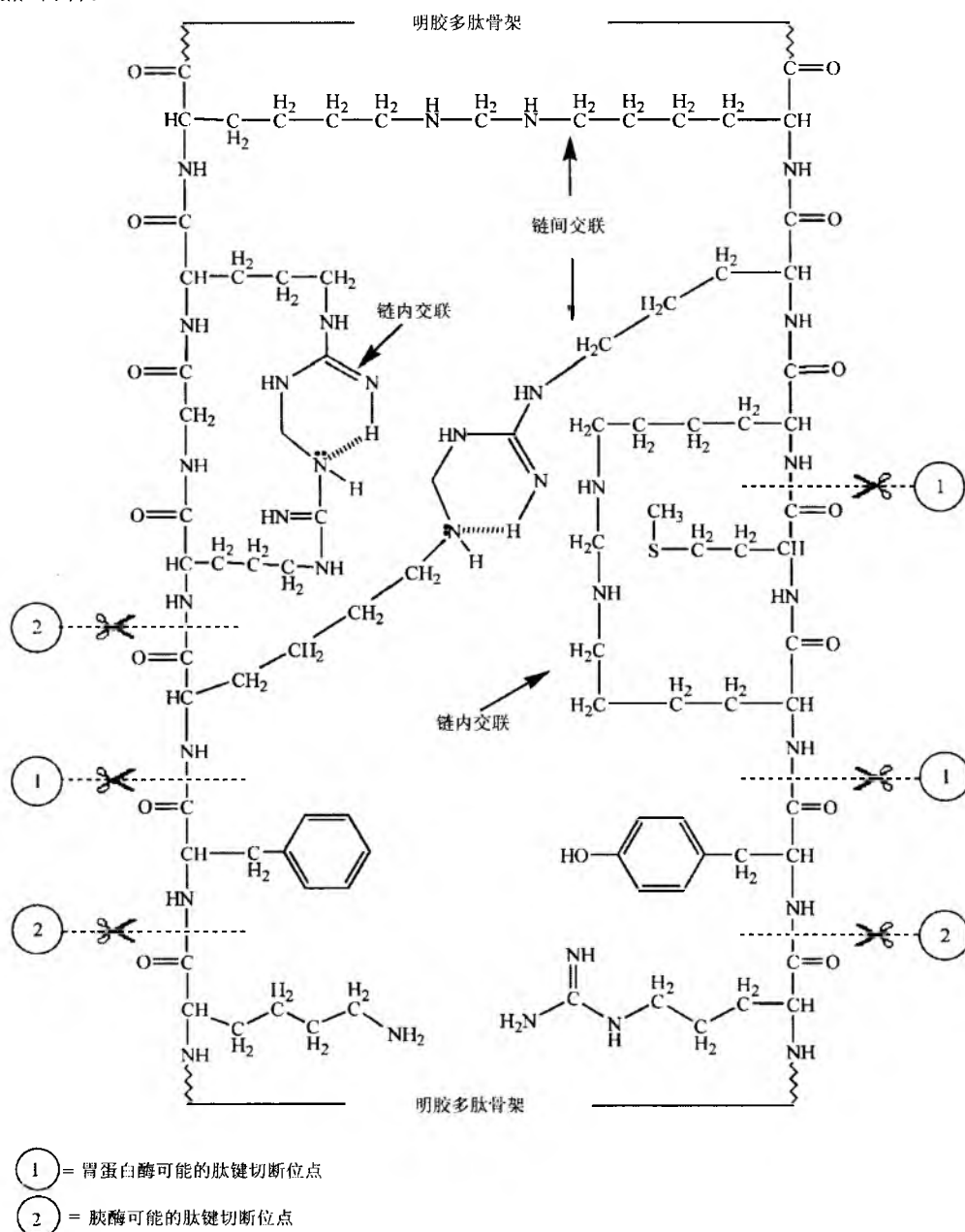
表1 文献报道的硬明胶胶囊溶出特性的改变

药物	储存条件				对溶出的影响	文献
	温度/℃	湿度/%	光照强度	储存时间		
吉非罗齐	37	—	—	1个月、2个月、3个月	—	[5]
	37	80	—		1月时明显↓	
	45	—	—		—	
水难溶性药物	40	75	—	稳定性研究	明显↓	[8]
依托度酸	40	75	—	8~20周	均明显↓	[15]
氯霉素	25	49	—	32周	无变化	[16]
		66			无变化	
		80			1h内无释放	
呋喃妥因	40	79		2周和10周	10周样品明显↓	[17]

续表

药物	储存条件				对溶出的影响	文献
	温度/℃	湿度/%	光照强度	储存时间		
疏水性药物在不同颜色的胶囊中	—	80	环境光	2周	明显↓	[18]
			荧光	2周	明显↓	
			UV	2天	明显↓	
疏水性药物在透明胶囊中	—	80	环境光	4周	无变化	
			荧光	4周	无变化	
氨苯蝶啶/氢氯噻嗪	40	85	—	4周	两个药物均明显↓	[19]
扑热息痛	40	75	—	55天	明显↓	[20]
	25	60	—	52周	明显↓	
硬明胶囊壳	81	37	—	12~14周和21周	均明显↓	[21]

注：↓代表溶出下降。

图6 多肽骨架通过形成链内和链间桥接而交联<sup>[1]</sup>



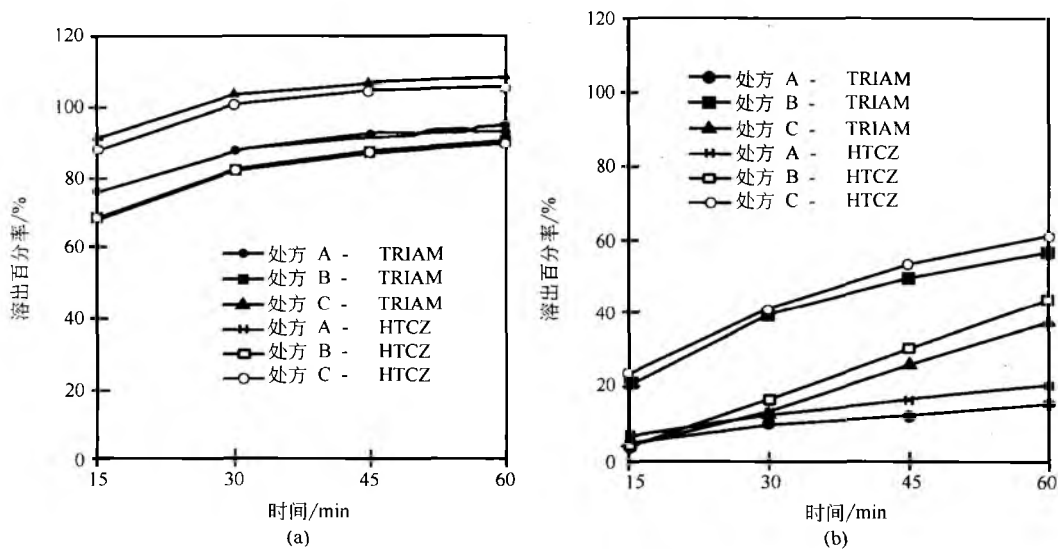


图7 三种处方的氨苯蝶啶 (TRIAM) 和氢氯噻嗪 (HCTZ) 硬胶囊剂的体外溶出曲线。(a) 新制备的胶囊; (b) 胶囊于 40°C/85%RH 放置 4 周。处方 A 为对照, 处方 B 含甘氨酸, 处方 C 含枸橼酸。结果表明胶囊置于高温和高湿环境中溶出下降<sup>[19]</sup>

表 2 是关于软胶囊溶出问题的文献报道。与硬胶囊一样, 软胶囊也很容易受环境和化学因素的影响, 但表面膜化的程度比较高, 主要因为软胶囊内的大量明胶<sup>[30]</sup>。图 8 很好地说明了这一点, 该图比较了在相同储存条件下, 阿莫西林三水合物软硬胶囊的释放特性<sup>[29]</sup>。很明显, 软胶囊变化更严重。在高湿时, 软胶囊变得更软、更黏和更肿胀,

这样不但能使水分从胶壳转移到内部, 在制备药物溶液和分散剂的溶剂中的化学催化剂也会从内容物转移到胶壳。软胶囊的壳也含有增塑剂, 如甘油和山梨醇、PEG 和聚乙基苄类的醚, 还有明胶、水和这些材料中的杂质催化剂, 这些都能导致化学和溶出的不稳定性<sup>[31,32]</sup>。

表 2 文献报道的软明胶胶囊溶出特性的改变

药物	储存条件				对溶出的影响	文献
	温度/°C	湿度/%	光照强度	储存时间		
扑热息痛	40	75		55 天	明显 ↓	[20]
	25	60		52 周	明显 ↓	
地高辛	5、25 和 37	—	—	1 周、3 周、6 周和 10 周	10 周样品明显 ↓	[24]
中链三甘油酯	40 或更高	—	—	6 个月	明显 ↓	[25, 26]
扑热息痛和硝苯地平	25	60	—	2~26 周	明显 ↓	[27]
	40	75			明显 ↓	
维生素类	40	75	—	6 和 24 个月	均明显 ↓	[28]
尼美舒利	40	75	荧光和 UV	8 天	明显 ↓	[29]

注: ↓代表溶出下降。

表 3 总结了一些糖衣片剂的已知的溶出问题。溶出和崩解的逐渐减少是由于明胶衣层和片芯的粘连<sup>[33]</sup>。研究也表明大多数情况下溶出试验结束后片芯还是干燥的<sup>[34]</sup>。图

9 显示磷酸氯喹的糖衣片剂暴露在 40°C 和 75%RH 条件下, 溶出速率随着时间而降低<sup>[12]</sup>。

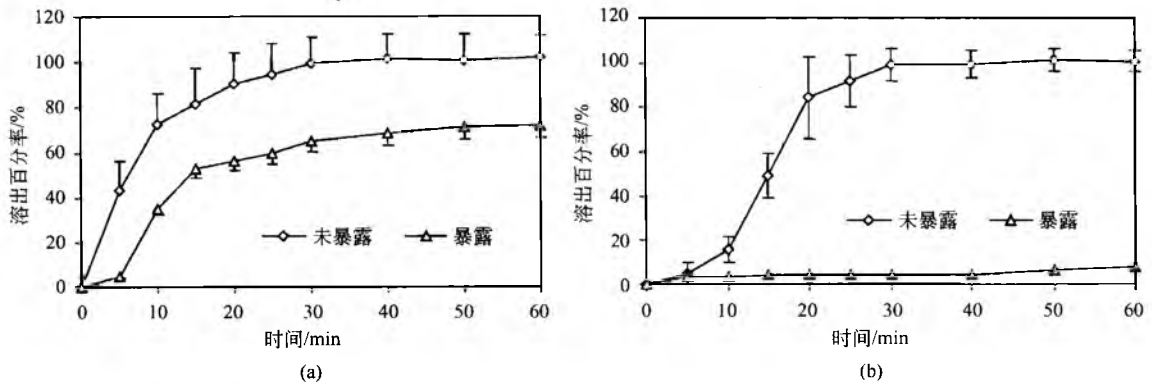


图8 阿莫西林三水合物硬胶囊 (a) 和软胶囊 (b) 的释放曲线。图为制剂在 40℃/75%RH/光照 8 天前后的比较, 表明软胶囊溶出下降更明显

表3 文献报道的糖衣片溶出特性的改变

药物	储存条件				对溶出的影响	文献
	温度/℃	湿度/%	光照强度	储存时间		
扑热息痛	室温	—	—	7 个月	无变化	[9]
	室温	高	—	3 个月、5 个月和 7 个月	明显↓	
保泰松	20、37 和 50	—	—	2~14 周	50℃ 14 周↓	[33]
丙戊酸	45	—	—	1 个月、2 个月和 3 个月	2 和 3 个月样品明显↓	[34]
	40	75	—			
布洛芬	37	75	—	4 周	明显↓	[35]
维生素 B <sub>2</sub>	45	—	—	—	明显↓	[29]

注: ↓代表溶出下降。

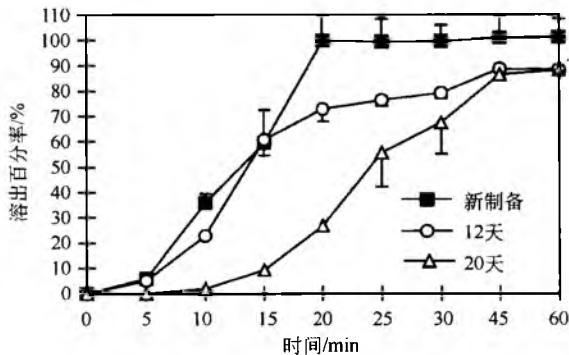


图9 市售磷酸氯喹糖衣片在 40℃和 75%RH 条件下放置长达 20 天的溶出曲线

也有文献报道显示用明胶作黏合剂的片剂崩解和溶出加快, 这发生在片剂储存在 50℃/83%RH 和 70℃/96%RH 下 7 周<sup>[37]</sup>。而且, 当相似的制剂储存在温和的条件下 (40℃/75%RH/光照) 3 周, 没有发现溶出明显降低。这说明在很极端的储存条件下, 表面膜的形成也会发生在其他含明胶的制剂中。而且, 这也证明在外层含明胶的制剂中, 很容易发生表面成膜。

在一项研究中, 评价了在包装形式下敏感的明胶制剂的交联程度<sup>[29]</sup>。图 10 (a)~(c) 描述了在光照试验箱中, 暴露在加速试验的温度和湿度环境下, 泡罩中软硬胶囊的溶出行为。新制备的和未包装的制剂用来做比较。图 10 (a) 显示与未暴露的产品相比, 包装的阿莫西林三水合物硬胶囊在溶出度上没有明显的变化, 而直接暴露的胶囊溶出则有明显的变化。两种泡罩包装的软胶囊的溶出行为与未暴露的样品相比 [图 10 (b) 和 (c)], 包装的样品溶出度改变程度不一致。未包装的胶囊有了很显著的变化。三个图的比较证明了以前的观点, 认为软明胶比硬明胶交联更严重, 它也说明泡罩包装有可能提供保护, 也有可能不提供保护, 取决于药物和胶囊的性质, 无论是软胶囊还是硬胶囊。甲哌氟丙噻糖衣片剂用窄条包装 [图 10 (d)] 的释放特性说明窄条包装和不包装的片剂释放延迟大约 20min, 之后溶出数据与不暴露的样品相一致。时间延迟也许是由于温度的影响, 因为窄条对湿度和光是阻隔的。

## 诱发变化的因素

表 1~表 3 和图 1、图 2 (a)、图 3、图 7 (b) 和图 8~

图 10 说明暴露在正常和加速的温度、湿度和光照等环境试验条件下一段时间后,明胶制剂的溶出显著下降。这清楚

说明表面膜的形成可被环境因素催化,不管是单独作用还是联合作用。

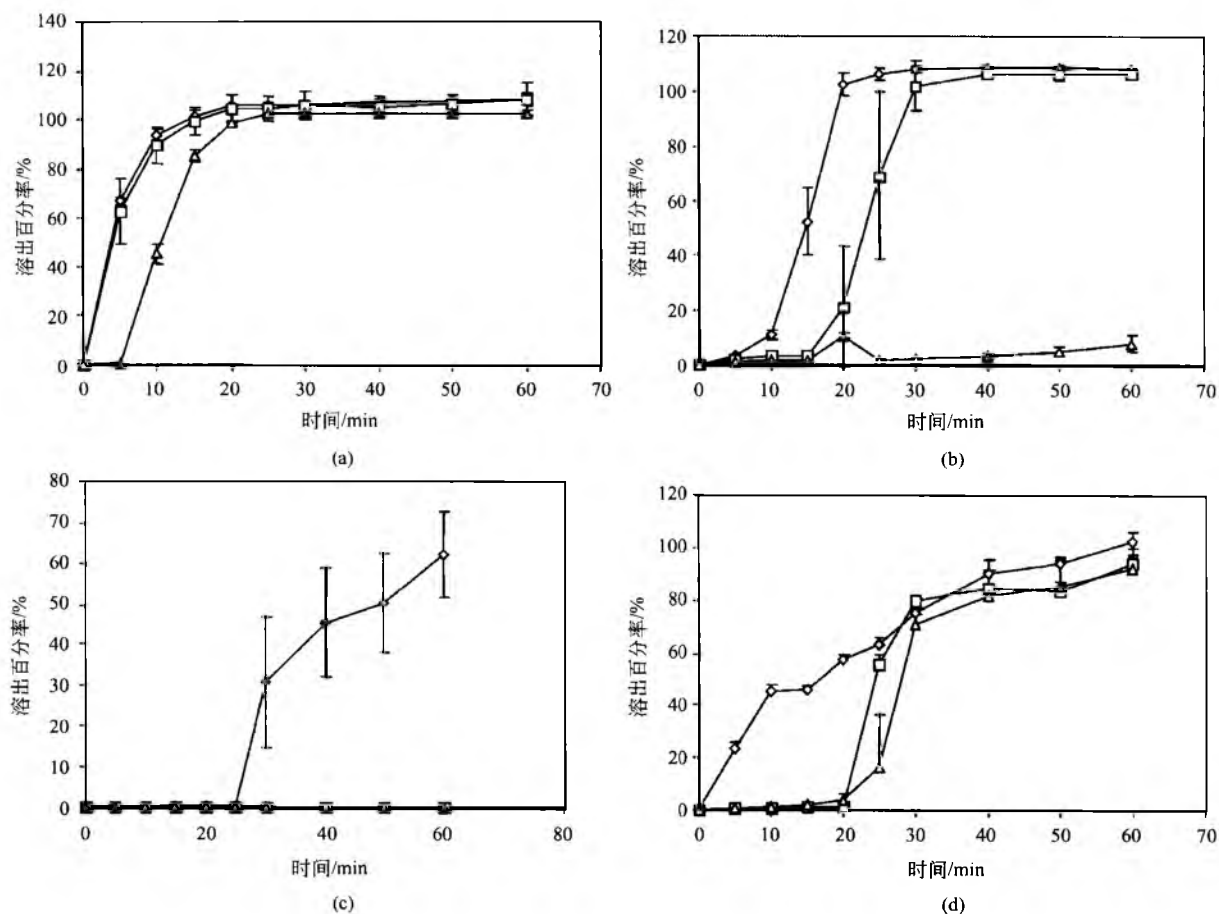


图 10 阿莫西林三水合物硬胶囊 (a)、头孢氨苄软胶囊 (b)、尼美舒利软胶囊 (c) 和三氟拉嗪糖衣片 (d) 的溶出曲线。储存条件为光照 40°C/75%RH

在室温条件下,交联反应一般比较缓慢,需要大概几周甚至几个月才能观察到变化。高温通过加快交联反应促使变性,从而加快表面膜的形成,图 11 就是一个典型的例子<sup>[25]</sup>。高湿和高温一起也能加速表面膜的形成。湿度单独起到了很重要的作用,通过几个途径影响表面膜的形成,

如间接催化亚胺结构的形成、催化辅料的降解、引发明胶的交联,也可作为明胶变性的介质。交联速度也受紫外和可见光的影响,它们可以同湿度<sup>[18]</sup>和温度一起产生影响<sup>[38]</sup>。

除了环境因素,化合物也能诱发明胶的交联。图 5 显示了这样的机制,主要是外部的醛的作用。在低相对分子质量的醛中,甲醛是最重要的,因为它能从制剂的增塑剂和防腐剂、油脂、聚乙烯物(如 PEG、PEG 醚)、脂肪族的醇或酚、聚乙烯甘油酯、非离子表面活性剂(聚山梨酯-80、不饱和的脂肪酸酯)和玉米淀粉中释放<sup>[4-6,39,40]</sup>。玉米淀粉有时含有微量的稳定剂六甲基羟化四甲胺,在湿度条件下能降解形成氨和甲醛<sup>[4]</sup>。所以,已有大量研究想要建立甲醛浓度和含明胶制剂溶出下降程度的关系<sup>[21,41~44]</sup>。其他一些醛(如呋喃醛、丙烯醛、戊二醛和甘油醛)也能影响明胶的完整性。还有一个有趣的现象是当装明胶胶囊的 HDPE 瓶顶部有人造纤维卷时,溶出速率下降<sup>[45,47]</sup>。这种人造纤维产生呋喃醛,而其在饱和的蒸汽环境中能明显地减慢明胶胶囊的溶解速率,见图 12。

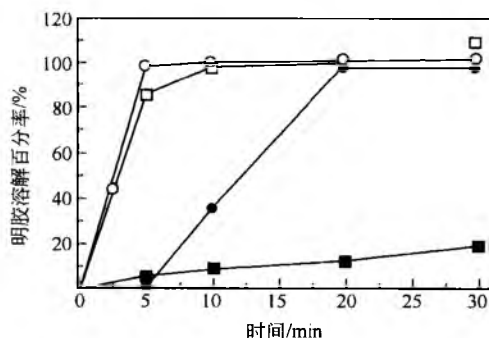


图 11 明胶壳在不同温度下的溶解曲线<sup>[25]</sup>。  
○原始;□25°C 放置 6 个月;●40°C 放置 6 个月;  
■60°C 放置 6 个月

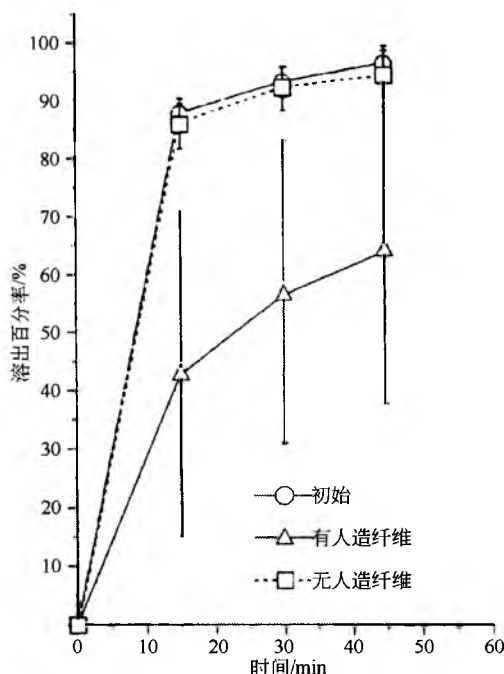


图 12 典型的人造纤维对药物溶出速率影响的例子<sup>[47]</sup>。样品在 40℃/75%RH 放置 2 个月

还有其他一些化合物能使明胶产生表面膜化。例如，一些糖类，如葡萄糖和蔗糖<sup>[1]</sup>；亚胺和酮<sup>[2]</sup>；染料如 FD&C 3 号和 40 号红<sup>[10,48]</sup>；氢化过氧化物，苯、硫酸，*p*-甲苯硫酸<sup>[19,49]</sup>；碳二亚胺类，如 1-乙烯 3-(3-二甲氨基丙基)盐酸炭二酰亚胺<sup>[19,46]</sup>；盐酸胍<sup>[50]</sup>；碳酸钙等<sup>[51,52]</sup>。

## 表面膜形成的诱导

我们通常都希望能够预先判断是否含有明胶的制剂随着储存的时间延长因表面膜的形成而溶出速度会减慢。有时候，一些制剂故意地暴露在极端的环境中来判断溶出介质中的酶是否能有效地克服表面膜的影响。出于这个目的，我们已成功使用了很多的方法。

一个例子是添加不同浓度的甲醛到乳糖中，分别是 0ppm<sup>①</sup>、20ppm、80ppm、120ppm，再将乳糖放到软或硬明胶胶囊内<sup>[20,21,27,53]</sup>。这样得到的制剂在室温或加速条件(40℃/75%RH)下储存。在不同的时间取样，并在有酶和不含酶的介质中进行溶出试验。将结果进行比较，能显示哪种制剂容易形成表面膜。但是，这种方法的缺点是制剂的明显延迟是发生在室温或加速条件下几天或几个月后<sup>[20,27,30]</sup>。长时间的储存决定了不能进行反复试验，特别是在处方和包装的开发过程中。

一种更好的通用的更快速的方法是制备明胶膜(根据软硬明胶胶囊的处方)，将小片膜暴露在含甲醛蒸气的密闭

室内 12h，这个过程如何操作已有文献报道<sup>[43]</sup>。一些研究者也用浸的方法将明胶膜暴露在醛的环境中<sup>[26,50,54]</sup>。这种直接甲醛方法的优势是只需要很短的时间，几个小时。这种方法最近用来根据对交联的敏感性区分明胶<sup>[43]</sup>。

还有一种方法也可以给出相似的结果，将明胶膜同时暴露在三个环境因素中：温度、湿度和光照。明胶膜或片在光照试验箱内暴露在 40℃/75%的湿度条件下 8 天，总的光照强度是 200 万 lx，紫外光强度大于 200 (W·h)/m<sup>2</sup>，取样进行溶出试验。尽管这个实验只有 8 天，它的优势是能模拟环境状况，产品可能在生产、运输、分发和储存中暴露在这样的环境中。还有一个好处是处方可以在包装和不包装的情况下直接研究。

## 交联程度和性质的评价

有几种方法可以评价暴露在环境和化学催化剂中的明胶和其产品的交联程度。表 4 提供了一些方法及其应用。

表 4 测定明胶膜和制剂的交联度和性质的方法

技术	应用
测定溶解度和溶出度	测定交联程度
重量分析，蛋白质分析方法，与二辛可宁酸显色反应，测定 214nm 的吸收	测定明胶非交联程度
采用 TNBS 试剂化学分析	交联引起的 ε-氨基减少
荧光分光光度法	明胶在凝胶态的构象改变
<sup>13</sup> C-NMR 光谱	测定与甲醛反应的交联类型
红外光谱	测定交联类型
近红外光谱	测定制剂的吸水量、交联程度和监测甲醛从内容物到囊壳的转移
核磁共振 (MRI)	研究离子到胶囊-水骨架的扩散

其中一个比较简单的方法是测定明胶膜的溶解度或制剂的溶出度<sup>[43,44]</sup>。溶解度和溶出度的下降已被证明与交联的程度线性相关<sup>[43]</sup>。那么胶膜和制剂在特定条件下所经受的变化的程度就可以由这些简单的试验得出。也有一些间接的方法，如重量分析、蛋白分析方法(包括与二辛可宁酸的颜色反应)，和在 214nm 处测定明胶在溶解和不溶解状态下的紫外吸收<sup>[21,56]</sup>。更加深入的研究可以采用 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 化学分析的方法<sup>[21,46,54,56]</sup>，该试剂与明胶的伯氨基反应，由此可知明胶在形成铰链的过程中失去多少 ε-氨基。

特性荧光强度的测定也可用来研究明胶的构象变化<sup>[57]</sup>。另外，交联的机制和位点可由 <sup>13</sup>C-NMR 光谱来研究。该技术已经成功地研究赖氨酸和赖氨酸、赖氨酸和精

① ppm 为非法定用法，1ppm=10<sup>-6</sup>，下同。

氨酸、精氨酸和精氨酸形成交联时哪些氨基在与甲醛反应后又进行了反应<sup>[58-61]</sup>。运用相同的技术, Gold 等用胰酶——一种胃肠道中的蛋白水解酶, 去极化交联的明胶<sup>[59]</sup>。一些研究者也试图运用 FT-IR 和 FT-NIR 光谱技术。Salsa 等用 FT-IR 来测定与甲醛反应形成的交联类型<sup>[62]</sup>。FT-NIR 光谱用来测定水的摄取<sup>[63]</sup>、交联的程度, 监测甲醛从胶囊内部转移到明胶壳中<sup>[41]</sup>。将 NIR 光谱和主成分分析结合起来, 就是一种多变量分析, 可给出好的预测结果<sup>[41, 63]</sup>。最近发现核磁共振成像 (MRI) 很适合研究离子在明胶和水介质中的扩散和明胶交联的位点<sup>[64]</sup>。

## 开发稳定的明胶制剂的方法

明胶制剂既有广泛的应用, 同时其形成交联和表面膜的问题又很普遍, 所以有必要开发稳定的制剂使其溶出 not 随时间增加而下降。这样的制剂要经受上述的环境和 (或) 化学催化剂因素的影响。

最简单的方法就是制剂中的明胶等级能经受环境和化学因素的影响。这样的明胶市场上已有销售。在购买之前应该向生产者询问这种明胶能否经受这种影响。一般而言, 明胶强度低于 250 就很容易形成表面膜, 与明胶 A 或 B 型没有很大关系<sup>[65]</sup>。

另外, 由于暴露在极端的环境中而产生的问题 (表 1~表 3) 可由将外层含明胶的制剂储存在凉爽、干燥和

较暗的环境中来解决, 这种产品可以添上标签说明。生产者可通过注意控制水分来解决这个问题, 因为水分很容易导致表面膜的形成。在明胶制剂的生产过程中也要控制湿度。制剂也应包装在阻湿和光的包装中。比如, 包装在泡罩的产品可通过采用不透水的膜和代替透水的 PVC 膜来提高稳定性, 如 PVC-PVDC、PVC-PVDC-PE、N-二甲氨基琥珀酰胺等。为了防止光的影响, 可添加有色的水膜, 每个包装应该装在双层的硬纸盒中。不幸的是, 这种方法没有被广泛运用。其他好的替代品是用窄条或双铝包装。

其他的方法是小心挑选的没有催化性杂质或不降解成催化性产物的成分和辅料。一个简单的例子是聚乙二醇, 通常是作为软胶囊中药物的溶剂。乙二醇一般含有少量的甲醛, 最好的防止它们和明胶反应的方法是用不含甲醛的乙二醇或加热含甲醛的乙二醇除去甲醛。同样的, 像玉米淀粉这样的辅料也应避免, 除非非常需要。

另外, 制剂也可加入特别的稳定剂。为去除制剂中原来就存在的和释放的甲醛, 可加甲醛清除剂, 如赖氨酸、苯胺、谷氨酰胺、盐酸羟胺, *p*-苯甲氨酸、甘氨酸等。由于甲醛的在体释放导致药物的降解可通过缓冲盐调节 pH 来控制。羧酸如苯甲酸、富马酸、马来酸、柠檬酸等在这方面有作用。氨基酸和缓冲盐在防止表面膜形成的协同作用方面已有研究<sup>[19]</sup>。图 13 显示在制剂中添加甘氨酸和枸橼酸两种酸比单独添加稳定作用更好 (图 7)。

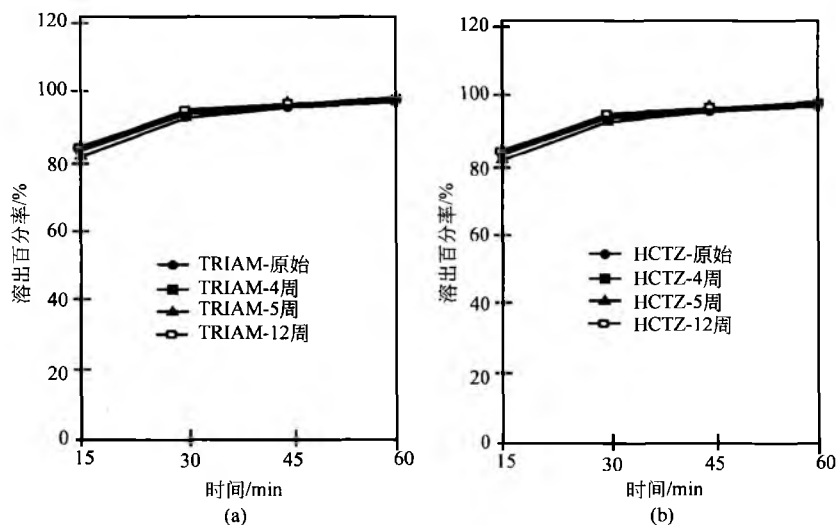


图 13 含有甘氨酸和枸橼酸的氨苯蝶啶 (TRIAM) (a) 和氢氯噻嗪 (HCTZ) (b) 硬胶囊剂的体外溶出曲线<sup>[19]</sup>。产品在 40°C/85%RH 放置 12 周, 表明氨基酸和缓冲液能抵消高温高湿储存条件的不利影响

一些研究报道直接用抑制剂, 如盐酸氨基脲、盐酸羟胺、水合氯醛、吡啶、哌啶、甘油、*p*-苯甲氨酸等, 来成功阻止交联<sup>[19, 49]</sup>。另外一种方法适用于硬明胶胶囊, 就是添加崩解剂。如果释放是由于胶囊的孔道特性, 胶囊剂含 10% 以上的崩解剂能经受高湿度的环境<sup>[66]</sup>。氧化钛、三氧化二铁在含明胶制剂中的应用能防

止光照导致的交联。一个很好的例子就是姜黄, 当其在胶囊壳中占 0.4% 时, 能 3 倍地增长测试药物的半衰期<sup>[67]</sup>。染料如 FD&C 5 号黄或 1 号蓝也能保护制剂免受光照的影响<sup>[18]</sup>。合成的三氧化二铁在 400nm 下有很强的吸收, 能有效地使用, 但如果其用量大于 15ppm 能导致软明胶胶囊的褪色<sup>[32]</sup>。

# H

## 稳定方法的专利状态

甘氨酸和柠檬酸联合应用来使明胶胶囊产品不形成交联的方法已被美国专利 No. 5, 674, 106<sup>[68]</sup> 和世界专利 No. 9733568<sup>[69]</sup> 保护。也有一些专利保护在膜剂和明胶中添加稳定剂。在产品制成前, 将谷氨酸、色氨酸分别或一起加入到明胶中, 能提高制剂在高温、高湿和(或)甲醛中的稳定性<sup>[70]</sup>。根据多肽和明胶的总量将多肽的含量控制在15%~70%能防止明胶随着时间增长而变得不溶, 而且不影响胶囊保持形状<sup>[71]</sup>。

## 将来的关注点

解决明胶产品表面膜化的问题主要的措施有: ①了解化学结构; ②确定能在制剂中添加的稳定剂; ③建立快速评估表面膜形成的测试方法; ④引入美国药典双重溶出测试。然而, 还有许多工作要做, 首先要做的就是除了美国药典外, 国际药典接受的双重溶出测试。要在稳定明胶原料的方法上下大功夫, 以便世界上明胶的生产者能提供稳定供药剂使用的明胶原料。同时, 需要研究新型的有效稳定剂, 能加入明胶膜中制成软硬明胶胶囊, 或加入糖衣片剂中作为底衣的明胶溶液中。硬明胶胶囊的生产者每年生产数十亿的胶囊, 如果能提供给他们稳定明胶原料的方法及加入填充物或膜处方中的稳定剂, 将起到很重要的作用。同样的概念也能用到软胶囊的生产中。在这种情况下, 如果这一点的研究取得成功, 表面膜化问题将有可能在很大程度上消除。

## 参考文献

- Digenis, G. A.; Gold, T. B.; Shah, V. P. Cross-Linking of Gelatin Capsules and Its Relevance to Their In Vitro-In Vivo Performance. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83 (7), 915-921.
- Carstensen, J. T.; Rhodes, C. T. Pellicule Formation in Gelatin Capsules. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (20), 2709-2712.
- Lozano, R.; Agorrodry, M.; Beraud, B.; Dauphin, J. -F. Gelatin Cross-Linking in Capsules and Its Effects on Dissolution. *Am. Pharm. Rev.* 2001, 4 (4), 8-16.
- Mohamad, H.; Renoux, R.; Aiache, S.; Aiache, J. M.; Kantelip, J. P. Investigation of Drug Biopharmaceutical Stability: Application to Capsules of Tetracycline Hydrochloride. Part 2. In Vivo Study. *S. T. P. Pharm. Pratiq.* 1986, 2, 630-635.
- Chafetz, L.; Hong, W.; Tsilifonis, D. C.; Taylor, A. K.; Philip, J. Decrease in the Rate of Capsule Dissolution Due to Formaldehyde from Polysorbate 80 Autoxidation. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73 (8), 1186-1187.
- Mohamad, H.; Renoux, R.; Aiache, S.; Aiache, J. M.; Kantelip, J. P. Investigation of Drug Biopharmaceutical Stability. Part 3. Study of Ampicillin Trihydrate Capsules (In Vitro/In Vivo Investigation). *S. T. P. Pharm. Pratiq.* 1986, 2, 912-917.
- Murthy, K. S.; Ghebre-Sellassie, I. Current Perspectives on the Dissolution Stability of Solid Oral Dosage Forms. *J. Pharm. Sci.* 1993, 82 (2), 113-126.
- Shaw, J. M.; Sullivan, B. M.; Bowen, W. E.; Martin, G. P.; Reed, R. A. Studies Directed Towards the Development of Enzymatic Dissolution Test Methods for Cross-Linked Hard Gelatin Capsule Formulations Containing Poorly Water-Soluble Drug Substances. Abstracts of the AAPS Annual Meeting, New Orleans, LA, Nov 14-18, 1999; American Association of Pharmaceutical Scientists; Arlington, VA, 1999; Abstract No. 3358.
- Dahl, T. C.; Sue, I. L. T.; Yum, A. The Effect of Pancreatin on the Dissolution Performance of Gelatin-Coated Tablets Exposed to High-Humidity Conditions. *Pharm. Res.* 1991, 8 (3), 412-414.
- Murthy, K. S.; Reisch, R. G. J.; Fawzi, M. B. Dissolution Stability of Hard-Shell Capsule Products, Part II: The Effect of Dissolution Test Conditions on In Vitro Drug Release. *Pharm. Technol.* 1989, 13 (6), 53-58.
- Hom, F. S.; Veresh, S. A.; Miskel, J. J. Soft Gelatin Capsules I: Factors Affecting Capsule Shell-Dissolution Rate. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62, 1001-1006.
- Manikandan, R. Studies on the Retardation of Dissolution of Gelatin Containing Formulations on Aging. M. Pharm. (Formulation) Thesis, NIPER, S. A. S. Nagar, India, 1999.
- United States Pharmacopoeia. 25th Edition, Physical Test and Determinations. 1999, p. 7516.
- Martin, E. D.; Fraser, R. J. L.; Camens, I. Storage of Phenytoin Capsules. *Med. J. Aust.* 1985, 143, 634-635.
- Dey, M.; Enever, R.; Kraml, M.; Prue, D. G.; Smith, D.; Weierstall, R. The Dissolution and Bioavailability of Etodolac from Capsules Exposed to Conditions of High Relative Humidity and Temperatures. *Pharm. Res.* 1993, 10 (9), 1295-1300.
- Khalil, S. A. H.; Ali, L. M. M.; Khalek, A. M. M. A. Effects of Aging and Relative Humidity on Drug Release. Part 1: Chloramphenicol Capsules. *Pharmazie* 1974, 29 (1), 36-37.
- Gouda, H. W.; Moustafa, M. A.; Al-Shora, H. I. Effect of Storage on Nitrofurantoin Solid Dosage Forms. *Int. J. Pharm.* 1984, 18, 213-215.
- Murthy, K. S.; Enders, N. A.; Fawzi, M. B. Dissolu-

- tion Stability of Hard-Shell Capsule Products, Part I: The Effect of Exaggerated Storage Conditions. *Pharm. Technol.* 1989, 13 (3), 72–84.
19. Adesunloye, T. A.; Stach, P. E. Effect of Glycine/Citric Acid on the Dissolution Stability of Hard Gelatin Capsules. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1998, 24 (6), 493–500.
  20. Meyer, M. C.; Straughn, A. B.; Mhatre, R. M.; Hussain, A.; Shah, V. P.; Bottom, C. B.; Cole, E. T.; Lesko, L. L.; Mallinowski, H.; Williams, R. L. The Effect of Gelatin Cross-Linking on the Bioequivalence of Hard and Soft Gelatin Acetaminophen Capsules. *Pharm. Res.* 2000, 17 (8), 962–966.
  21. Ofner, C. M., III.; Zhang, Y. E.; Jobeck, V. C.; Bowman, B. J. Cross-Linking Studies in Gelatin Capsules Treated with Formaldehyde and in Capsules Exposed to Elevated Temperature and Humidity. *J. Pharm. Sci.* 2001, 90 (1), 79–88.
  22. Chang, R. K.; Raghavan, K. S.; Hussain, M. A. A Study on Gelatin Capsule Brittleness; Moisture Transfer Between the Capsule Shell and Its Content. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87 (5), 556–558.
  23. Georgarakis, M.; Hatzipantou, P.; Kountourelis, J. E. Effect of Particle Size, Content in Lubricant, Mixing Time and Storage Relative Humidity on Drug Release from Hard Gelatin Ampicillin Capsules. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1988, 14 (7), 915–923.
  24. Johnson, B. F.; McAuley, P. V.; Smith, P. M.; French, J. A. G. The Effects of Storage upon In Vitro and In Vivo Characteristics of Soft Gelatin Capsules Containing Digoxin. *J. Pharm. Pharmacol.* 1977, 29, 576–578.
  25. Hakata, T.; Sato, H.; Watanabe, Y.; Matsumoto, M. Effect of Storage Temperature on the Physicochemical Properties of Soft Gelatin Capsule Shells. *Chem. Pharm. Bull.* 1994, 42 (7), 1496–1500.
  26. Hakata, T.; Sato, H.; Watanabe, Y.; Matsumoto, M. Effect of Formaldehyde on the Physicochemical Properties of Soft Gelatin Capsule Shells. *Chem. Pharm. Bull.* 1994, 42 (5), 1138–1142.
  27. Bottom, C. B.; Clark, M.; Carstensen, J. T. Dissolution Testing of Soft Shell Capsules-Acetaminophen and Nifedipine. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86 (9), 1057–1061.
  28. Sukur, K. Disintegration Test Media for Soft Gelatin Capsules-Need for Global Harmonization. Abstracts of the 1999 AAPS Annual Meeting, New Orleans, LA, Nov. 14–18, 1999; American Association of Pharmaceutical Scientists: Arlington, VA, 1999; Abstract No. 3350.
  29. Venugopal, K. Studies on Stability of Gelatin Based Products. M. Pharm. (Formulation) Thesis, 2000, NIPER, S. A. S. Nagar, India.
  30. Brown, J.; Madit, N.; Cole, E. T.; Wilding, I. R.; Cade, D. The Effects of Cross-Linking on the In Vivo Disintegration of Hard Gelatin Capsules. *Pharm. Res.* 1998, 15 (7), 1026–1030.
  31. Seager, H. Soft Gelatin Capsules: Solution to Many Tableting Problems. *Pharm. Technol.* 1985, 9, 84–104.
  32. Jimerson, R. F. Soft Gelatin Capsule Update. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1986, 12 (8&9), 1133–1144.
  33. Barrett, D.; Fell, J. T. Effect of Aging on Physical Properties of Phenylbutazone Tablets. *J. Pharm. Sci.* 1975, 64 (2), 335–337.
  34. Shah, I. G.; Parsons, D. L. Preparation and In-Vitro Evaluation of Powder Solution Tablets of Valproic Acid. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (13), 1587–1602.
  35. Romero, A. J.; Grady, L. T.; Rhodes, C. T. Dissolution Testing of Ibuprofen Tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1988, 14 (11), 1549–1586.
  36. Khalil, S. A. H.; Barakat, N. S.; Boraie, N. A. Effect of Aging on Dissolution Rates and Bioavailability of Riboflavin Sugar-Coated Tablets. *S. T. P. Pharm. Sci.* 1991, 1, 189–194.
  37. Asker, A. F.; Abdel-Khalek, M. M.; Machloof, I. Effect of Scaling Up and Formulation Factors on the Qualities of Prednisone Tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1981, 7 (1), 79–111.
  38. Singh, S.; Manikandan, R.; Singh, S. Stability Testing for Gelatin-Based Formulations; Rapidly Evaluating the Possibility of a Reduction in Dissolution Rates. *Pharm. Technol.* 2000, 24 (5), 58–72.
  39. Jones, B. E. Hard Capsules-Development and Technology; Ridgway, K., Ed.; The Pharmaceutical Press: London, U. K., 1987; 39–48.
  40. Doelker, E.; Vial-Bernasconi, A. C. Shell-Content Interactions in Gelatin Capsules and a Critical Evaluation of Their Effects on Drug Availability. *S. T. P. Pharm.* 1988, 4, 298–306.
  41. Gold, T. B.; Buice, R. G.; Lodder, J. R. A.; Digenis, G. A. Determination of Extent of Formaldehyde-Induced Crosslinking in Hard Gelatin Capsules by Near-Infrared Spectrophotometry. *Pharm. Res.* 1997, 14 (8), 1046–1050.
  42. Gold, T. B.; Buice, R. G.; Lodder, J. R. A.; Digenis, G. A. Detection of Formaldehyde-Induced Crosslinking in Soft Elastic Gelatin Capsules Using Near-Infrared Spectrophotometry. *Pharm. Dev. Technol.* 1998, 3 (2), 209–214.
  43. Venugopal, K.; Singh, S. Evaluation of Gelatins for

- Crosslinking Potential. *Pharm. Technol. Drug Delivery* 2001, Supplement, 32—37.
44. Cade, D.; Madit, N.; Cole, E. Development of a Test Procedure to Consistently Cross-Link Hard Gelatin Capsules with Formaldehyde. *Pharm. Res.* 1994, 11, S—147.
45. Schwier, J. R.; Cooke, G. G.; Hartauer, K. J.; Yu, L. Rayon: Source of Furfural-A Reactive Aldehyde Capable of Insolubilizing Gelatin Capsules. *Pharm. Technol.* 1993, 17, 78—80.
46. Ofner, C. M., III.; Bubnis, W. A. Chemical and Swelling Evaluations of Amino Group Crosslinking in Gelatin and Modified Gelatin Matrices. *Pharm. Res.* 1996, 13 (12), 1821—1827.
47. Hartauer, K. J.; Bucko, J. H.; Cooke, G. G.; Mayer, R. F.; Schwier, J. R.; Sullivan, G. R. Effect of Rayon Coiler on the Dissolution Stability of Hard-Shell Gelatin Capsules. *Pharm. Technol.* 1993, 17, 76—83.
48. Cooper, J. J. W.; Ansel, H. C.; Cadwallader, D. E. Liquid and Solid Interactions of Primary Certified Colorants with Pharmaceutical Gelatins. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62 (7), 1156—1164.
49. Marks, C. A.; Tourtellotte, D.; Andux, A. A Phenomenon of Gelatin Insolubility. *Food Technol.* 1968, 22, 1433—1436.
50. Guyot, M.; Fawaz, F.; Maury, M. In Vitro Release of Theophyllin from Cross-Linked Gelatin Capsules. *Int. J. Pharm.* 1996, 144, 209—216.
51. El-Fattah, S. A.; Khalil, S. A. H. Variations in Dissolution Rates of Sugar-Coated Chlorpromazine Tablets. *Int. J. Pharm.* 1984, 18, 225—234.
52. Ray-Johnson, M. L.; Jackson, I. M. Temperature-Related Incompatibility Between Gelatin and Calcium Carbonate in Sugar-Coated Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 309—310.
53. Digenis, G. A.; Sandefer, E. P.; Page, R. C.; Doll, W. J.; Gold, T. B.; Darwazeh, N. B. Bioequivalence Study of Stressed and Unstressed Hard Gelatin Capsules using Amoxycillin as a Drug Marker and Gamma Scintigraphy to Confirm Time and GI Location of In Vivo Capsules Rupture. *Pharm. Res.* 2000, 17 (5), 572—582.
54. Vandelli, M. A.; Rivasi, F.; Guerra, P.; Forni, F.; Arletti, R. Gelatin Microspheres Crosslinked with D, L-Glyceraldehyde as a Potential Drug Delivery System; Preparation, Characterisation, In Vitro and In Vivo Studies. *Int. J. Pharm.* 2001, 215, 175—184.
55. Welz, M. M.; Ofner, C. M., III. Examination of Self-crosslinked Gelatin as a Hydrogel for Controlled Release. *J. Pharm. Sci.* 1992, 81 (1), 85—90.
56. Bubnis, W. A.; Ofner, C. M., III. The Determination of 1-Amino Group in Soluble and Poorly Soluble Proteinaceous Materials by a Spectrophotometric Method Using Trinitrobenzenesulfonic Acid. *Anal. Biochem.* 1992, 207, 129—133.
57. Liu, W. G.; Yao, K. D.; Wang, G. C.; Li, H. X. Intrinsic Fluorescence Investigation on the Change in Conformation of Cross-Linked Gelatin Gel During Volume Phase Transition. *Polymer* 2000, 41, 7589—7592.
58. Taylor, S. K.; Davidson, F.; Ovenall, D. W. Carbon 13-Nuclear Magnetic Resonance Studies on Gelatin Crosslinking by Formaldehyde. *Photogr. Sci. Eng.* 1978, 22, 134—138.
59. Gold, T. B.; Smith, S. L.; Digenis, G. A. Studies on the Influence of pH and Pancreatin on 13C-Formaldehyde-Induced Gelatin Crosslinks Using Nuclear Magnetic Resonance. *Pharm. Dev. Technol.* 1996, 1 (1), 21—26.
60. Albert, K.; Peters, B.; Bayer, E.; Treiber, U.; Zwilling, M. Crosslinking of Gelatin with Formaldehyde; A 13C NMR Study. *Z. Naturforsch.* 1986, 41b, 351—358.
61. Albert, K.; Bayer, E.; Worsching, A.; Vogele, H. Investigation of the Hardening Reaction of Gelatin with 13C Labeled Formaldehyde by Solution and Solid State 13C NMR Spectroscopy. *Z. Naturforsch.* 1991, 46b, 385—389.
62. Salsa, T.; Pina, M. E.; Teixeira-Dias, J. J. C. Crosslinking of Gelatin in the Reaction with Formaldehyde; An FTIR Spectroscopic Study. *Appl. Spectrosc.* 1996, 50 (10), 1314—1318.
63. Buice, R. G.; Gold, T. B.; Lodder, R. A.; Digenis, G. A. Determination of Moisture in Intact Gelatin Capsules by Near-Infrared Spectrophotometry. *Pharm. Res.* 1995, 12 (1), 161—163.
64. [www.cis.rit.edu/people/faculty/hornak/jph-part-2.htm](http://www.cis.rit.edu/people/faculty/hornak/jph-part-2.htm). (accessed 2001).
65. Ramarao, K. V.; Singh, S. Sensitivity of Gelatin Raw Materials to Cross-Linking; Influence of the Type of Gelatins and Bloom Strength. *Pharm. Technol.* 2002, 26 (12), 42, 44, 46.
66. Dahl, T. C.; Sue, I. T.; Yum, A. The Influence of Disintegrant Level and Capsule Size on Dissolution of Hard Gelatin Capsules Stored in High Humidity Conditions. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1991, 17 (7), 1001—1016.
67. Thoma, K. Photodecomposition and Stabilization of Compounds in Dosage Forms. The Photostability of Drugs and Drug Formulations; Taylor & Francis;



- London, 1996; 111—140.
68. Adesunloye, A. T.; Stach, P. E. Filled Gelatin Capsules. US 5, 874, 106, February 23, 1999.
69. Adesunloye, A. T.; Stach, P. E. Filled Gelatin Capsules Having a Reduced Degree of Cross-Linking. WO 9, 733, 568, September 18, 1997.
70. Cade, D.; Madit, N. Process for Stabilizing Gelatin Products, US 5, 620, 764, April 15, 1997.
71. Tatematsu, S.; Omata, K.; Hashimoto, T.; Takahashi, M.; Ito, N. Gelatin Composition, EP 0, 35, 982, October 11, 1989.

(金 樑 译)





## 罕用药物

Carolyn H. Asbury

University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, U. S. A.

### 引言

在 20 世纪 60~70 年代,随着 FDA 对证明相对药物安全性和有效性新要求出现,药物研发费用开始增加,化学药物、生物药物和诊断试剂厂商面临着进退两难的境地。他们考虑为什么开发重要的医疗药物,但又没有什么利润呢?在美国极为明显的低利润药物之一是用于罕见疾病和状况的药物。罕用药物意味着很少有患者能参加在临床研究申请者领导下进行的安全性和有效性临床试验。在试验中补充患者速度慢会延长药物开发时间,而 17 年的专利保护时间过得很快。每当药品申请者得到进入洲际市场所需的新药申请许可时,都将会发现几乎没有消费者。这通常会意味着投资的低回报 (ROI),而且对于用于罕见疾病的药物花费在试验和获得批准上的时间也是一个机会成本。另外,厂家将会把时间和资源投在市场回报高的产品上。

六种其他的药物范畴限制了商业利润<sup>[1]</sup>,它们是:

(1) 慢性病,需要加长实验阶段来评价长期有效性,用光关键的专利保护时间。

(2) 单次用药,例如,疫苗,需要独立的生产设备,很多人使用,但只用一次,运输风险高;而诊断试剂的销量也相对较低。

(3) 育龄妇女,呈现出不平行的责任风险。

(4) 现在小孩和老人都被排除在临床试验以外。儿童的风险很高,很难入选参加临床试验。多种病症的老年人也被 FDA 排除在试验之外,因为他们所患疾病以及用于治疗这些疾病的药物会混淆试验结果。(一旦药品上市,医生也会开药给这两类患者,然而还没有确定最佳的剂量,也没有明确老年患者可能的药物相互作用)。

(5) 用于罕见病或常见病治疗的药物,以下是不能申请专利的,包括货架化学药物,现有药物,天然药物,及专利到期的药物等。

(6) 滥用或预防复发的药物,用于高风险人群的药物,临床治疗试验不合作者的药物,一旦上市即需要详尽报告的药物。

此外发展中国家,存在着产品分发和支付的一系列问题。

观察发现一些药物可能很常用,但没有足够的潜在利润吸引商家的进入,负责官员在 1968 年的《美国医院药学期刊》中称它们为无家的或“孤儿”药物<sup>[2]</sup>。本章将集中介绍治疗罕见疾病的罕用药物。提供一些有关涉及罕用药物争议和研究的背景材料,包括为了处理这些争议对 1983 年颁布的罕用药物法律的描述,以及从立法至今的进步和

出现的一些问题。

### 背景

1938 年的食品药品化妆品法案和 1962 年的 Kefauver-Harris 修正案从根本上改变了药物在美国的发展。他们强调药物安全性和有效性的确定,但是按成本价格,没有企业对罕见疾病的药物感兴趣。1938 年在二甘醇事件后法律要求提供安全性证据。二甘醇过去用作磺胺的赋形剂,后被发现在体内会形成致死量的草酸,二甘醇事件导致了 100 多人死亡,大多数为儿童<sup>[3]</sup>。尽管法律要求企业提供药物是相对安全的证据。但对于 FDA,其职责是在于证明药物是不安全的,并使之撤市。沙利度胺灾难事件改变了这种状况。在欧洲和加拿大报道了由于母亲在怀孕时服用了沙利度胺而导致新生儿出现悲剧性的出生缺陷。当时新闻引起了很大反响,于是国会开始修改 1938 年要求申请者在批准药品上市前提供药物有效性证据的法律。沙利度胺灾难促使国会要求申请者提供安全性证据。为了履行这两个要求,FDA 建立了 IND 程序,要求申请者在开始临床试验验证药物有效性之前,进行试验以确定相对安全性。FDA 建立了 NDA 批准程序来规范药物进入市场之前的安全性和有效性。

在专利保护和法规要求之间,固有的相互作用逐渐显现出来。专利保护对于由研究细致的垂直整合的公司开发的产品是必要的,这些公司注意到在增加开发成本的时代一些主要市场赢利者保存下来了<sup>[5]</sup>。在 IND 和 NDA 上市之前所消耗的专利时间减少了生产者保护他们产品的时间,一旦上市就会面临着低成本的仿制药物的竞争。药物开发的成本也变得更高,在 FDA 修正案实施以前,20 世纪 60 年代末和 70 年代初,每一个新化学实体 (new chemical entity, NCE) 开发费用估计在 270 万~1690 万美元<sup>[6,7]</sup>。到了 70 年代后期这个花费上升到了 5400 万美元<sup>[8]</sup>。从那时起,花费不断攀升,从 80 年代后期的 12 400 万美元,到 1991 年的 23 100 万美元,以及到现在的 50 000 万美元<sup>[9,10]</sup>。

到 20 世纪 60 年代末,70 年代初,市场赢利的制药公司赚取了公司的大部分利润,并且有助于促进处方医生对商标的忠诚。另外一些药物至少需要不亏不盈。尽管没有巨大的利润,这些药物通常占有了巨大的市场。治疗罕见疾病的药物通常不是不亏不盈,而是很少用到。他们成为受到政府监护的药物和大学资助开发成果。

癌症治疗药是政府的第一批监护药物之一,甚至在 1962 年食品药品化妆品法案修正之前,联邦政府就已经成

为促进癌症治疗药物开发者并一直扮演着这样的角色。那时，癌症药物治疗并不被业界关注。1955 年国家癌症研究院（National Cancer Institute, NCI）设立了癌症化疗项目，得到 500 万美元的国会授权。受抗生素工业巨大发展的影响，国会认识到低投资回报率 ROI 阻碍了行业在充分利用早期抗肿瘤药物研究成果方面的兴趣（用于急性儿童白血病的抗叶酸剂氨蝶呤和用于子宫绒毛膜癌的甲氨蝶呤）。国会决定 NCI 应该担负起挑战。认为 NCI 从一个开发抗白血病药物的小基金资助项目开始，该项目基于可移植性肿瘤在同源啮齿类动物中用作新药测试系统。在 NCI 起草了有关商业数据秘密协议后，企业提供了化合物进行生物活性筛选。三年内癌症化疗项目实现了 3500 万的工业合同。在最初几个失策后，当时 FDA 不愿接受癌症基金的研究结果，为此 FDA 和 NCI 对怎样提供所需数据达成清楚的协定。从那时起直到最早是 20 世纪 80 年代早期，NCI 一直涉足美国抗肿瘤药物的开发和临床试验<sup>[11~13]</sup>。

1966 年美国国家神经传导疾病和中风研究院设立了抗癫痫药物开发项目，研究临床试验方法，并引导已在其他国家上市的抗癫痫药物的临床试验。该研究项目后来发展成一个与 NCI 研究项目相似的筛选程序，研究院对进入临床试验的药物 INDs 进行归档。到 1981 年为止，有 4 个药物商业上进入 NDA 阶段<sup>[14,15]</sup>。

尽管国立卫生研究院（NIH）提供的药物研究的大部分联邦基金，是用于罕见疾病药物的研究如癌症和癫痫，NIH 也提供基金用于开发其他罕用药物。这包括防止和治疗药物成瘾和复发的药物，育龄妇女的避孕药，以及 NIH 和疾病控制中心研究的疫苗。1983 年前，当罕用药物法案生效后，NIH 药物开发项目和基金支持研究有 13 个治疗罕见疾病的药物允许上市。在罕用药物法案之前的 17 年中，制药工业开发和上市了 34 个用于治疗罕见疾病的药物和生物制品<sup>[16]</sup>。其中，上市的 10 个罕用药物是没有政府、大学支持，由企业独自开发的<sup>[17]</sup>。

## 1. 蓄积风暴

虽然如此，大学的研究者在医疗杂志上发表了几篇文章描述他们在研究已有药物的新剂型或将药物装入胶囊进行罕见病临床试验中的困境，因为没有制药企业愿意帮助他们<sup>[18~20]</sup>。其中一个研究者，剑桥大学的 John Walshe，宣称这种“自己动手”的问题与一般的差得太远，应置于一个合理的商业基础上<sup>[21]</sup>。FDA 公布一个可能有效的治疗药物清单，这些药物主要由大学或政府组织的科学家开发，但他们没有找到商业赞助者来进行昂贵的Ⅲ期临床有效性试验，提交 NDA，并将产品上市<sup>[22]</sup>。在 1979 年，FDA 召集了有关商业价值不大的药物工作小组，讨论怎样寻找商业赞助者。同一年，那时在 Rochester 大学的 Louis Lasagna，在杂志 *Regulation* 上的一篇文章中提出谁会接收罕用药物的问题，引起了院长的注意<sup>[23]</sup>。

有报道 NIH 资助的大学研究者不能引起企业对没有开发的药物承担和取得 NDA 批准的兴趣。企业引述了三个主

要问题：第一，NIH 资助的科学家可能没有按 FDA 的要求收集和分析资料。第二，如果研究者以前在科学文献中发表过论文，资料的商业秘密状态不能保持。第三，许多 NIH 资助的研究是不能或不再能申请专利保护的。FDA 特别工作小组建议给企业提供开发有限商业价值药物的鼓励政策，但从这些鼓励政策中获得的任何利润均要部分或全部回报给政府<sup>[24]</sup>。这种仲裁式的方法是基于假定行业愿意为了这些药物与 FDA 进行条件交换的。但这种假定是在没有考虑做这件事的企业任何表示的情况下做出的<sup>[25]</sup>。

尽管工作小组是对罕用药物状况的首次官方反应（除了 NIH 资助的研究反应），还有几个民间的努力正在进行着，以推进罕用药物的开发和上市。制药企业联合会（Pharmaceutical Manufacture Association, PMA），现在称为美国药物研究与生产联合会（Pharmaceutical Research and Manufactures of America, PhRMA），为有治疗前景的罕用药物在其成员企业中寻找开发者。还有一个客户群，国家罕见病组织（National Organization for Rare Disorders, NORD）的数量越来越多，现在代表 2000 万患者及其家庭，正在采取行动以引起公共注意，并有助于将患者和进行有关他们的疾病或状况的临床研究的研究者联系起来。

## 2. 闪电式发现

纽约西奈山医学院的一名研究者正在为其用于肌阵挛的药物 5-羟色氨酸寻找制药公司的资助，求助于国会议员 Elizabeth Holtzman（纽约民主党）立法解决罕用药物研究的困境。她在 1980 年提出设立有限商业价值药物办公室的议案，帮助 NIH 开发治疗罕见病的药物<sup>[26]</sup>。尽管对该议案没有采取行动，但是委员会听取了加州一名儿童 Tourette 氏综合征患者的证词。该疾病是由遗传引起的神经疾病，会致患者颤搐、抽筋、不能控制地爆发言语辱骂。当氟哌啶醇不能控制其症状时，该名患者获取并尝试了匹莫齐特，该药在加拿大和欧洲用于该病症，但没有在美国上市。

一家洛杉矶报纸报道了该证词，引起了电视系列片 *Quincy* 的制片人的注意。不久，一部 *Quincy* 专题生动地讲述了患者与 Tourette 综合征作斗争的艰难，以及制药企业试图克服商业上的不利因素开发药物治疗这些患者的事迹。这部专题片说明没有疾病就没有治愈。在国会委员会前一个引人注目的场景中，*Quincy* 向国会发出了感人的寻找治疗方法的请求。那以后不久，*Quincy* 明星 Jack Klugman 被国会议员 Henry Waxman（加州民主党）邀请出席听证罕用药物议案，该议案与 Holtzman 的类似，由她的同事众议院议员 Ted Weiss（纽约民主党）提出。Klugman 在听证会上作了证词，提出了与片中相同的请求<sup>[27]</sup>。一本华尔街杂志发表评论，标题为“离开现实”，将 Klugman 作为一名罕用药物专家在 Waxman 小组委员会面前的出现比作 Leonard Nimoy（星际旅行中的 Spock 先生）作为国家的太空项目专家的作证<sup>[28]</sup>。1981 年末，国会议员 Waxman 提出了 H. R. 5238，罕用药物法案。

为了搞清楚目前治疗罕见病的药物开发的状况，该委



员会对三类药调查了企业、NIH 和 FDA:

(1) PMA (现为 PhRMA) 成员企业列出的用于治疗罕见病的药物, 这些药物由企业开发人上市, 或出于同情心供专家使用。

(2) FDA 列出的正在研究的药品和生物制品, 但这些药物的 FDA 批准或上市需要商业资助者。

(3) NIH 科学家或被资助者正在开发的药物。

从这次调查中小组委员会得知, 企业从 1965 年到现在已经上市了 34 个治疗罕见疾病的药物, 并有另外 24 个药物 (正在开发中) 供医生出于同情心用于罕见病患者。绝大部分 (82%) 的上市药物用来治疗在美国少于 10 万患者的疾病, 10% 治疗 10 万~50 万患者的疾病, 余下的 8% 是治疗超过一百万患者的。制药企业的发言人表明在上市的药物中, 除了 10 种外, 联邦资金支持了其他药物的研发。

企业发言人坚定宣称的不利前景表明, 83% 的药物 ROI 少于上市药物的资助者平均回报, 而这些药物的研发费用比平均水平要高 12%, 企业提出的另一个问题是当可供试验的患者数很少时, FDA 的临床试验指南不明确。这进一步影响了资助者估计临床试验时间的长短, 以及一旦药物批准后所剩的专利保护期的长短。调查资料表明企业资助者上市的罕用药物临床试验平均花费 5.75 年 (从提交 IND 到提交 NDA)。没有专利的罕用药物越来越不可能被提交 NDA 批准, 表明至少一段时间市场保护的重要性。尽管没有专利保护, 但企业研制的有约 2/5 (39%) 的治疗罕见疾病的药物在 20 世纪 60 年代上市, 这个比例在 70 年代下降到 29%。1/5 的已上市罕用药物的生产厂商, 提交了责任申明。鼓舞人心的发现是 1/4 的企业研制的上市罕用药物的适应证相同, 这表明罕用药物是相当好的市场投机<sup>[29]</sup>。

### 3. 罕用药物法案的通过提供了市场激励和法规协助

主要根据 NORD 在国会所列举的揭示数百万人及其家庭被罕见疾病深深地影响的证词, 以及揭示市场和法规阻碍治疗进步的调查数据, 国会在 1992 年 12 月在一个简短的会议上通过了罕用药物法案, 被通用制剂工业协会 (Generic Pharmaceutical Industry Association, GPIA) 主席称作国会简短会议金蛋。这个提案在 1983 年的第一周作为法律签发<sup>[30]</sup>, 最初 GPIA 支持这个法案 (公共法律 97~414), 它开始寻找开发罕用药物的资助人。在删除和修改一些条款后, 最终得到 PMA 的支持。法案中的条款和接下来的 1984 年、1985 年、1988 年的修订注重市场和法规的问题, 并为制药行业开发治疗罕见病药物出台了激励措施。

修订的法案定义了罕见疾病是在美国患者少于 20 万人的疾病。相反, 如果开发和上市治疗这种疾病的药物花费从药物在美国的销售中得不到较好的回报前景, 那么这种疾病在美国能影响超过 20 万人。因此, 不管在美国的患者总数有多少, 如果能通过法案的财政标准申请, 该药就能被 FDA 确认为罕用药物。主要的条款是两条市场激励措施

和减少法规障碍。FDA 的罕用药物开发办公室管理几乎所有的法律条款。

一个激励的措施是对于产品的特定适应证 FDA 批准七年的市场专有权。对于确认的罕用药物或该药物确认和批准的适应证, 专有权从 FDA 批准上市申请开始算起。为特定的适应证确认作为罕用药物的申请必须在提交 NDA (或生物制品许可申请, PLA) 上市批准之前<sup>[31]</sup>。其他开发者的治疗同样疾病的不同药物或相同的药物治疗其他罕见病或常见病也可以获得批准。因此, 市场专有权只排除第二个开发者获得与第一个开发者用于治疗相同罕见病的相同罕用药物的批准。最初市场专有权只能授予没有专利保护的物质, 1985 年的修正案准许所有罕用药物市场专有, 无论有没有专利保护。这个改变想要为治疗罕见病药物的开发者提供一些激励措施, 这些罕用药物的专利在药物批准的前后将要到期, 或者优先公开 (主要是大学或政府科学家) 已经阻止了专利的发布。

通过 NDA 过程的成功完成, 以得到获得 FDA 上市许可所要求的数据, 第二个激励措施是提供相当于在任何给定时间内进行临床人体试验所花费用 50% 的课税扣除。国内税务局负责课税扣除规定。

该法案为 FDA 提供资金支持指定的正在开发的罕用药物进行临床研究, 到 2000 年 3 月 FDA 资助资金一共 1.263 亿美元。从 1983 年的最初 50 万美元基金开始, 这个基金项目在 1994 年达到顶峰为 1230 万美元, 然后虽稍有下降, 但后来稳定, 在 1999 年共计 1110 万美元<sup>[32]</sup>。申请通过外部的专家评审, 并按得分高低提供资金。FDA 在罕用药物开发办公室的网站上 ([www.fda.gov/orphan/grants/patients](http://www.fda.gov/orphan/grants/patients)) 提供研究者寻找试验对象信息。按疾病或病症的名称列出, 包括研究简介、临床试验入组标准 (如年龄、疾病阶段等)、还有临床研究者寻找临床试验者的合同等信息。患者、及其家属或医生能够跟从临床研究者。

为了解除法规的障碍, 当罕用药物开发者要求正式的方案协助时, FDA 也能提供。尽管对方案协助要求的正式审查是直接由 FDA 的评价和研究中心负责的 (一个对药物, 另一个对生物制品), 罕用药物开发办公室负责确证该要求符合规定。开发者不一定要得到罕用药物的确认才得到方案协助。

最后, 要求 FDA 鼓励开发者为患者设计开放的药物可用性方案, 不包括临床试验。

### 4. 罕用药物的现状

FDA 在 1983 年到 2000 年 3 月间批准了 201 个罕用药物上市<sup>[33]</sup>, 所以在法案通过的 17 年里, 与法案通过前的 17 年相比, 批准的罕用药物的数量增加了 6 倍 (表 1)。这些药物分成 16 个治疗类别, 主要用于治疗癌症、感染性疾病、AIDS 和相关病症, 以及中枢神经系统疾病 (表 2)。在 201 个上市的药物中, 24 个药物 (12%) 受到了 FDA 在临床试验上的基金支持<sup>[34]</sup>, 这些受基金支持的药物清单在 FDA 罕用药物开发办公室的网站上可以看到

(www.fda.gov/orphan/GRANTS)。

表 1 指定和批准的罕用药物

	1983 年前	1989 年	1991 年	2000 年 3 月
累计批准的罕用药物	34 <sup>1)</sup>	36	54	235
批准的罕用药物的总 开发者数量 <sup>2)</sup>	17			110

1) 那时, 它们被称为治疗罕见疾病的药物, 不是罕用药物。

2) 开发者的统计只有两个时间节点。

表 2 批准的罕用药物: 每种治疗分类的数量

分类	批准的罕用药物 N=201
癌症	49
感染性疾病	23
中枢神经系统	22
造血系统	21
AIDS, 有关 AIDS 的	21
内分泌疾病	18
先天性代谢障碍疾病	12
肾病	8
心血管疾病	7
呼吸道	5
胃肠道	5
骨	3
免疫性疾病	2
皮肤病	2
解毒剂	2
尿道	1

这些批准的罕用药物开发者的数量 (几乎都是制药或生物公司) 从 17 个 (法案前的上市了 34 个药物) 增长到 2000 年 3 月的 110 个。每个开发者的批准药物数量从 1 到 8 个, 多数是一个开发者开发一个药物 (表 3)。到 2000 年 3 月, 共有 813 个药物得到罕用药物确认, 其中, 约 25% 的药物开发者提交了 IND 申请, 表明正在进行开发<sup>[35]</sup>。

表 3 每个开发者批准的罕用药物, 2000 年 3 月<sup>1)</sup>

每个开发者的药物数	开发者数
1	69
2	19
3	6
4	2
5	5
6	2
7	1
8	2

1) 不包括 1983 年法案通过以前批准的用于罕见疾病治疗的罕用药物。

很多确认和批准的罕用药物是在生物技术公司中开发的。从 20 世纪 70 年代开始, 分子生物学刺激了生物技术公司的创立, 据报道这些公司早期独占市场, 开发治疗罕

见疾病的药物时缺乏竞争, 这对于风险投资提供了重要的保护。其结果是, 现在罕用药物是生物技术最流行的、可能是最赚钱的产品之一。在 1988 年和 1992 年间, 生物技术产品名称增长了 31%, 占总罕用药物的 8%~39%<sup>[36]</sup>。除了制药企业, 开发者还包括大学、独立的研究者和国家公共健康机构, 他们一共有六个罕用药物得到批准。批准的和指定的罕用药物列表可从 FDA 的罕用药物开发办公室得到。这些数据表明自从法律生效后, 罕用药物开发一直在增长。罕用药物的销售额据报道一年已经超过了 10 亿美元<sup>[37]</sup>。

## 5. 导致的后果: 一些药物的高价格

到 20 世纪 90 年代早期为止, 批准的已经上市一年或更长的时间的 41 个罕用药物, 在美国的销售数据表明, 75% 的产品每个药物赚了不到 1000 万美元, 3 个产品在 1500 万美元到 2500 万美元之间, 6 个药物在 2600 万到 1 亿美元, 2 个产品超过 1 亿美元。生物技术公司生产了 11 个高销售额药物中的 4 个药物。

那些高价格的罕用药物已经引起了强烈的争论, 市场专有权条款产生了不必要的垄断, 人为地维持高价。例如, 重组人血红蛋白 (r-EPO), 用于治疗慢性肾衰竭引起的贫血。EPO 使进行肾透析的肾病晚期患者免于频繁的血液清洗, 这些患者都属于联邦医疗保健基金项目。Amgen 公司和 Genetis 研究院都为他们的 r-EPO 产品向 FDA 申请市场垄断性。Amgen 公司是第一个收到 FDA 批准和市场独占的。Genetics 研究院是第一个受到专利保护的。法院裁定 Amgen 公司拥有市场独占权, 在上市的前 6 个月, r-EPO 销售超过 1 亿美元, 由医疗保健支付, 到 1991 年, 总销售额有 4 亿美元<sup>[38]</sup>。

另一个例子, 人生长激素 (r-hGH) 在 1991 年销售额有 1.5 亿美元, 在美国用于治疗了大约 12 000 名儿童, 他们因缺少内源性垂体激素而生长迟缓。有两个公司供应 r-hGH, Genentech 公司在 1985 年得到 FDA 的市场独占批准, Eli Lilly 公司在两年后批准上市, 是因为两个产品有一个氨基酸不同<sup>[39,40]</sup>。但是共同的市场没有产生价格竞争: 每个公司按所需剂型, 每年从每个孩子身上赚 2 万美元。

第三个例子, 喷他脒气雾剂在 1991 年达到了 1.3 亿美元销售额, 用于阻止与人体免疫缺陷病毒 (HIV) 相关的肺孢子虫性肺炎, 快速递增的 HIV 流行导致用户不断增长, 很快超过了法律规定的 20 万人。这个例子和其他两个例子一起促使寻找法律上的解决方法, 一系列的修改建议被提出并于 1990 年在国会通过, 这些修正建议结束了用于流行病的罕用药物状态, 允许用于相同适应症产品的同时开发, 允许市场共享, 希望能达到价格竞争的目的。但这个修正案后来被否决了<sup>[41]</sup>。正如 Arno、Bonuck 和 Danis 在 Milbank 季刊上说明的, AIDS 治疗药物例证了政策的进退两难, 怎样用这个法案达到既合法的激励治疗罕见疾病药物的开发, 而又不导致这些药物价格过高难以接受<sup>[42]</sup>。

最近的另外一个例子是一种用来治疗 Gaucher's 疾病的

酶,这种疾病是一种先天的新陈代谢障碍疾病,用西利酶治疗。这种治疗每年需要 1t 胎盘,从中提取药物,每位患者每年需要花费高达 50 万美元,依所需的剂型而定。1996 年国立卫生研究院的技术评价小组发表了关于这种疾病的诊断和治疗,得出结论称,尽管这种酶的治疗是有效的,但治疗受到费用的限制。这个小组报告说必须尽快制定恰当的临床适应证,并确定最小的起始剂量和维持剂量<sup>[43]</sup>。

虽然在法案制定前的调查发现,对于法案制定前上市的 60% 治疗罕见疾病的产品,他们的零售价格比厂商的平均价格要高。但对于一些在制定法案后的罕用药物的定价,如上面的几例子,是该法案的一个很重要的关键结果。这个结果值得公众的详细审查。对于某些罕用药物来说,可获得性胜过有效性是目前需要创造性解决的挑战,这是进步的标志。

### 参 考 文 献

1. Asbury, C. H. Medical Drugs of Limited Commercial Interest: Profit Alone is a Bitter Pill. *Intern. J. Health Serv.* 1981, 11 (3), 451—462.
2. Provost, G. P. Homeless or Orphan Drugs. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1968, 25, 609.
3. Silverman, M.; Lee, P. R. Pills, Profits and Politics; University of California Press; Berkeley, 1974; 2.
4. Harris, R. The Real Voice; Macmillan; New York, 1964; 21—25.
5. Temin, P. Technology, Regulation and Market Structure in the Modern Pharmaceutical Industry. *Bell J. Econ.* 1979, 10 (2), 427—446.
6. Report of the Panel on Chemicals and Health of the President's Science Advisory Committee, 73—500, NSF, U. S. Government Printing Office; Washington, DC, 1973.
7. Schwartzman, D. Innovation in the Pharmaceutical Industry; Johns Hopkins University Press; Baltimore, 1976; 106—107.
8. Hansen, R. W. The Pharmaceutical Development Process: Estimates of Development Costs and Times and Effects of Proposed Regulatory Changes. *Issues in Pharmaceutical Economics*; Chien, R., Ed.; Lexington Books; Lexington, MA, 1980; 151—181.
9. DiMasi, J.; Hanson, R.; Grabowski, H.; Lasagna, L. The Cost of Innovation in the Pharmaceutical Industry and Health Economics. *J. Health Econ.* 1991, 10, 107—142.
10. Rosenbaum, D. E. The Gathering Storm Over Prescription Drugs. *The New York Times* Nov. 14, 1999, 1, Section 4 (Week in Review).
11. Devita, V.; Oliverio, V. T.; Muggia, F. M.; Wiernick, P. W.; Ziegler, J.; Goldin, A.; Rubin, D.; Henney, J.; Schepartz, S. The Drug Development and Clinical Trials Programs of the Division of Cancer Treatment, National Cancer Institute. *Cancer Clin. Trials* 1979, 2, 195—216.
12. Zubrod, C. G.; Schepartz, S.; Leiten, J.; Endicott, K. M.; Carrese, L. M.; Baker, C. E. *Cancer Chemotherapy Reports* October 1996, 50 (7); DHEW; Washington, DC, 1968.
13. Rate of Development of Anticancer Drugs by the National Cancer Institute and the U. S. Pharmaceutical Industry and the Impact of Regulation. Final Report for the National Cancer Institute; University of Rochester Medical Center; New York, 1981; 40.
14. Krall, R. A. Anti-Epileptic Drug Development. I. History and a Program for Progress. *Epilepsia* 1978, 19 (4), 398—408.
15. Program Performance Summary. National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke Antiepileptic Drug Development Program; NINCDS; Washington, DC, 1982.
16. Orphan Drugs in Development, 1992 Annual Survey. Pharmaceutical Manufacturers Association; Washington, DC, 1992.
17. Orphan Drug Act Report, 97th Congress, 2nd Session. Washington, DC, Sept 17; 1982.
18. Van Woert, M. Profitable and Non-Profitable Drugs. *N. Engl. J. Med.* 1978, 298 (16), 903—906.
19. Rawlins, M. No Utopia Yet. *Br. Med. J.* 1977, 2, 1076.
20. Rawlins, M. Editorial. *Lancet* 1976, 2 (7970), 835—836.
21. Walshe, J. M. Treatment of Wilson's Disease with Trientine (Triethylene Tetramine) Dihydrochloride. *Lancet* 1982, 1, 643—647.
22. Asbury, C. H. Medical Drugs of Limited Commercial Interest; The Development of Federal Policy; Johns Hopkins School of Hygiene and Public Health Thesis, Baltimore, 1981; 157—175.
23. Lasagna, L. Who Will Adopt the Orphan Drugs? *Regulation* 1979, 3 (6), 27—32.
24. U. S. Food and Drug Administration Report. Interagency Task Force Report to the Secretary of DHEW; FDA; Washington, DC, 1979; 1—82.
25. Asbury, C. H.; Stolley, P. Orphan Drugs: Creating Federal Policy. *Ann. Intern. Med.* 1981, 95 (2), 221—224.
26. Holtzman, E. Rep. H. R. 7089, 96th Congress, 2nd Session. Washington, DC, April 17, 1980.
27. Klugman, J.; Seligman, A. Testimony, Serial No. 97—

- 17, U. S. Government Printing Office: Washington, DC, 1981; 10—16.
28. Leave of Reality (Editorial) . The Wall Street Journal March 12, 1981.
29. Asbury, C. H. Orphan Drugs: Medical vs. Market Value; D. C. Heath: Lexington, MA, 1985; 136—155.
30. Waxman, H. R. Rep. H. R. 5328, 97th Congress, 1st Session. Washington, DC, 1981.
31. FDA Office of Orphan Products Development, [www.fed.gov/orphan/about/progovw.htm](http://www.fed.gov/orphan/about/progovw.htm) (accessed Feb 2000) .
32. Personal Communication, FDA OOPD, March 2000.
33. FDA List of Approved Orphan Products through 02/24/2000, FDA: Washington, DC, 2000; Provided on Request from the FDA OOPD.
34. Grant-Supported Products with Marketing Approval, FDA OOPD, Washington, DC, [www.fda.gov/orphan/grants/magranants](http://www.fda.gov/orphan/grants/magranants) (accessed Feb 2000) .
35. Personal Communication, FDA OOPD, March 2000.
36. Schuman, S. R. Implementation of the Orphan Drug Act. Food Drug Law J. 1992, 47 (4), 363—403.
37. Grady, D. In Quest to Cure Rare Diseases, Some Get Left Out. The New York Times; Nov. 16, 1999.
38. Coster, J. M. Recombinant Erythropoietin: Orphan Product with a Silver Spoon. Intern. J. Technol. Assess. Health Care 1992, 8 (4), 635—646.
39. Hilt, P. J. Seeking Limits to a Drug Monopoly. The New York Times; May 14, 1992, D1; 7.
40. Asbury, C. H. Evolution and Current Status of the Orphan Drug Act. Intern. J. Technol. Assess. Health Care 1992, 8 (4), 573—582.
41. Asbury, C. H. The Orphan Drug Act; The first 7 years. J. Am. Med. Assoc. 1991, 265, 893—897.
42. Arno, P. S. ; Bonuck, K. ; Davis, M. Rare Disease Drug Development and AIDS; The Impact of the Orphan Drug Act. Milbank Q. 1995, 73 (2), 231—252.
43. NIH Technology Panel on Gaucher Disease. Gaucher Disease. Current Issues in Diagnosis and Treatment. J. Am. Med. Assoc. 1996, 275 (7), 548—553.

(王国平 梁瀚森 张玉波 译)

## H

## 化妆品及其与药物的关系

Martin M. Rieger

M&amp;A Rieger, Morris Plains, New Jersey, U. S. A.

## 引言

根据食品、药品和化妆品法案 (FDCA, 21 US 法典 301), 美国食品和药品管理局 (FDA) 有权管理食品、处方药 (Rx)、非处方药 (OTC) 和化妆品。FDA 还执行第二个法规, 即合理包装与标签法案 (FPLA, 15 US 法典 1400)。为了执行好这个复杂的任务, FDA 严格依照 FDCA 中有关药品和化妆品的法律和法规定义来执行。然而在对药物和化妆品组成的理解上, 公众和管理机关可能会存有分歧。从哲学和历史角度来看, 化妆品是一种有助于改善外观的产品, 它能遮掩那些不希望被看到的色斑或皮肤缺陷, 或者至少能够转移人们的注意力。

改变头发颜色的产品是化妆品; 同样的, 暴露在阳光下时有助于增加皮肤变褐色的产品也是化妆品。传统的观念深植于消费者心中, 但却不一定正确。例如, 头发颜色的改变, 可由以下原因引起: ①假发, 可以被看成是服饰的一部分; ②多种染色法, 可以被看成是化妆上的变化; ③摄入或局部应用某些物质, 这些物质能逐渐改变毛囊合成黑色素的能力, 这个应归类于药物的效果。这三种途径的共同目标是改变外观, 这也是所有化妆品的主要目标。达到目标的方法区分开了三种头发的着色过程, 并决定了产品究竟是药物还是化妆品。这可能会引起一些混淆, 防晒产品也是如此。多年来, 局部应用以防止晒伤的产品一直被认为是化妆品, 即使在某些“化妆品”中加入了紫外线 B (UV-B) 的吸收剂。当 FDA 把晒黑产品和防晒产品列入 OTC 药物进行审批时, 化妆品行业的反应相当平静。多年来一直被当作化妆品使用的产品突然被法律或行政法令批准为药物。FDA 的依据是防晒就是预防疾病。加入能增强皮肤黑色素细胞产生黑色素的成分后, 这种产品将被消费者当成化妆品来使用。对于这样的产品, FDA 倾向于认为这是一种化妆品 (改变颜色和外观), 但是如果宣称黑色素有防晒的作用, 那么这种产品就武断地被视为药物。引申下去, 阳伞能防止太阳照射, 它也应该是一种医疗工具, 但还没有合理地解释过。

人们必须认识到化妆品和药品之间的差别是复杂的, 这种差别容易被消费者的感觉、商业利益和拥有最终法律决定权的管理机构的司法解释之间的相互作用而模糊。因此, 化妆品和药品之间的差别将在下一节进行讨论, 讨论将基于现存的美国法律、产品的成分、安全性和有效性。有关化妆品和药品之间区别的法律和条例因国家而异。因此, 这项调查将特别指出哪些与美国法律有明显不同之处。

## 基于美国法律的比较

## 1. 定义

药物和化妆品最明显的区别基于联邦食品药品和化妆品法案 (21 USC 301 及下列等) 中的司法定义。化妆品明确定义为:

①用来擦拭、倾倒、喷洒或喷射、引入或以其他方式应用于人体或其他部位, 以达到清洁、美容、增强吸引力或改变外表的物品; ②可用作以上任何产品成分的物品, 不包括肥皂。

另外, 药品定义为:

药品这个术语意为: ①正式的美国药典、正式的美国顺势疗法药典、国家处方集或三者的任何增补版所认可的物品; ②用于人或动物疾病的诊断、治疗、缓和、处理或预防的物品; ③除食品外, 可影响人类或动物的机体的结构或功能的物品; ④可用作①、②或③中所述的物品成分的物品, 但是并不包括设备及其元件、部件或附件。

这些定义可能不同于消费者的理解或习惯看法, 但是法庭将根据这些法律定义做出排他性的判决。很明显, 我们将根据产品的用途来决定将其划分为药物还是化妆品, 而不是根据其实际功效。一种通过除皱来美容的护肤产品既是化妆品 (改变外表), 也是药品 (影响身体结构)。从历史和直觉来说, 对药品的要求远远比化妆品严格, 并且管理机构和法庭对可以既是药品又是化妆品的产品提出了更严格的要求。表 1 列举了被 FDA 认定为化妆品的产品。其中, 一些产品在其他国家被当成是药品或准药品。

表 1 在美国被认为是化妆品的产品列表

婴幼儿用品	乳膏, 洗剂, 油剂, 粉剂, 香波
洗浴用品	泡泡沐浴精, 胶囊, 油剂, 浴盐, 肥皂和去污剂, 片剂
清洁用品	乳膏, 灌洗液, 液体和垫子, 洗剂, 个人清洁用品
洁牙剂	气溶胶, 口气清新剂, 液体, 漱口剂, 糊剂, 粉剂
芳香剂	古龙水, 花露水, 除臭剂, 香精, 香水
护发产品	脱毛剂, 敷裹剂, 着色剂, 柔顺剂, 增亮剂, 其他洗发剂, 烫发产品, 香波, 喷剂, 拉直剂, 染发剂, 护发素, 定型剂



续表

化妆品	腮红, 眉笔, 眼线膏, 眼用化妆品, 眼部卸妆剂, 眼影, 粉饼, 脸部美容品, 定影液, 基础妆, 人体彩绘颜料, 润唇膏, 口红, 睫毛膏, 胭脂
其他产品	糊剂, 男用散剂、女用散剂, 滑石粉
剃须用品	须后水, 软须剂, 剃须霜 (气溶胶, 剃须膏), 须前水
皮肤护理用品	润肤剂, 眼膏, 脸部和颈部用产品, 清凉剂和收敛剂, 晒黑胶

## 2. 食品和药品管理局的任务

FDA 被授权执行 FDCA 和 FPLA。FDA 的手段是对药品和化妆品同样实行检查和扣押。FDCA 禁止使用 (或存在) 有毒或有害物质。一旦被发现, 该化妆品将被认为是劣等品或假冒产品。从这方面考虑, 药品和化妆品并没有明显的差别。同样, 药品和化妆品的 GMP 只有较小的差异。对于在不符合 GMP 条件下生产出的产品, 将予以查封。近年来, 对于违反化妆品法规的事件, FDA 并没有对此提起诉讼; 相反, FDA 依赖于所谓的警告信而不是采取复杂的法律行动来得到厂商的配合。

与处方药物不同, OTC 药物和化妆品不需要进行预检查。预检查专门是为了防止将危险和不希望的药物引入市场。在 OTC 药物中对成分的限制非常严格, 禁止加入未经测试的药物或组合物。事实上, 如果一种新化学实体可能完全适合作为 OTC 药物加入, 那么就必须经过新药申请 (NDA) 的过程。FDA 审批处方药和 OTC 药物主要基于药物的性能。疗效好、生物利用度高和较少副作用是非常重要的。因此, 所有药物的审批均要求合理地选择药物辅料。然而, 由于缺乏 FDA 认可的化妆品成分目录, 所以化妆品制造商有责任为消费者提供在期望的使用环境下对消费者无害的产品。一些成分受到特别限制, 并且还有一项法规要求为化妆品提供安全性证明。这些将在“关于成分使用的限制”一节中进行讨论。

## 3. 着色剂

着色剂对化妆品处方特别重要。染料和色素不仅使产品外观更具有吸引力, 而且对于任何旨在改变人体肤色的产品来说也至关重要。FDA 非常谨慎地管理着色剂, 在美国目前关于着色剂的管理现状只有一些概况。

认证的着色剂为合成的有机染料, 在已经批准的着色剂申请书中有所描述。生产的每一批认证的染料必须经 FDA 分析和认可后才能使用。

色淀是由一种认证的着色剂的不溶性金属盐沉积在惰性底物表面构成的色素。这些色淀受 FDA 着色剂规则的管理, 使用前必须经过 FDA 的认可。

那些不属于认证的着色剂或色淀归类于非认证的着色剂。每一种均包括在已批准的颜色添加剂申请书中, 但是

每批在使用前不需要 FDA 的认可。

第四大类着色剂是染发剂。这些化合物或其混合物仅获准用于对头发进行着色, 而不能用在眼睛区域。这些着色剂的使用是可豁免的。也就是说, 所谓的煤焦油的染发剂在销售时要贴上警告标签, 说明使用前需要进行预测试以及禁止在眼睛里或眼睛附近使用。

## 4. 肥皂排除

在 FDCA 中, 肥皂被专门排除在化妆品之外, 而且任何化妆品和药品的法规都不适用于肥皂。FDCA 中没有定义术语肥皂, 但 FDA 规定, 如果一种产品的大部分不挥发性物质为脂肪酸的碱式盐, 并且其清洁作用单独由脂肪酸盐引起, 那么这种产品就是肥皂。另外, 该产品必须在标签上注明为肥皂。如果一种产品中只含有油酸钾的水溶液时, 该产品就会被认为是洗发水, 那么该产品必须遵守化妆品法规。

因此, 术语肥皂有两个意思: 第一个意思是 FDA 定义的, 用于法律目的; 第二个意思是一般意义, 肥皂是指不符合 FDA 的定义项的清洁产品。因此, 这些产品必须被当作化妆品。联邦贸易委员会 (FTC) 和消费品安全委员会 (CPSC) 负责有关肥皂的法规控制。

## 基于组成的比较

基于 1962 年开始的药效研究实施 (DESI) 的审核, FDA 最终得出结论: 在 3400 个处方药物的大约 16 000 个宣称中, 仅仅有约 2300 个药物对至少一种适应证有效。现在所有的处方药物都必须经过 NDA 过程, 从实际的目的来看, NDA 过程是一种关键的预检查步骤。当 DESI 的工作接近尾声时, FDA 于 1972 年启动了所谓的 OTC 审核。FDA 将约 250 000 种药物归入大约 55 个治疗类别。专门小组对每个治疗类别进行了审核, 他们有责任确定每个 OTC 药物的安全性和有效性, 并限制这些药物的宣称适应证为专门小组认为适合特定药物或药物组合物的适应证。很明显, 无论是处方药还是 OTC 药物, 如果想上市, 药物内必须含有能够识别的且表现出一定治疗作用的药物实体, 并且该药物实体在体内有生物利用度。化妆品中在原材料的使用方面没有类似的法律要求。通常, 如果化妆品中出现或宣称含有某种成分有治疗作用, 那么它将不是化妆品, 而是药物。

基于药物成分的安全性和有效性方面的考虑, FDA 将以下一些外用药物划为 OTC 药物:

- 痤疮用品;
- 去头皮屑产品;
- 抗菌产品;
- 止汗产品;
- 收敛性的产品;
- 口腔护理产品;
- 皮肤保护产品;

H

## H

- 防晒产品；
- 外用止痛产品。

在其他国家，其中一些产品被认为是化妆品。

在这些产品中，过去使用的一些活性物质已被划分为 I 类物质，即安全有效。这些物质的使用以及对成品的宣传，使其成为 OTC 药物而非化妆品。

尽管大部分试验的最终报告已经公开，但是 OTC 专门小组的工作还没有结束。然而没有制定明确的条例或进行司法复审。现在看起来经 OTC 小组审核的成分可以作为辅料或其他类似的物质应用于化妆品中。同样，如果它们同药物一起使用或宣称其有治疗作用，则都可以将化妆品转化成药品。这时，标签和宣称的功能必须遵守已经为 OTC 药物所建立的规定。化妆品几乎不限制其成分的使用。然而，对治疗效果的宣称会将任何化妆品转变成一种药物，正如 FDA 所做的解释那样。法规并没有限制将一种药物用于与其药物状态无关的目的。

## 化妆品及其与药物的关系

### 1. 在化妆品中使用的成分的限制

OTC 专门小组对活性药物的审核仅限于相对较少的药物品种，但是化妆品工业使用成千上万的成分，其中包括许多植物和动物来源的。许多典型的化妆品成分是同使用在处方药和 OTC 药物中的成分一样的，但是只有非常少的一些化妆品成分受到 FDA 的限制。这包括含汞化合物，除了在用于眼睛内或周围的产品中作为防腐剂。其他的包括二硫化物、氯乙烯、卤化水杨酰苯胺、锆化合物在气雾剂、氯仿、氟利昂抛射剂和六氯酚。至于化妆品成分，FDA 将证实其安全性的责任完全交给了制造商。这些安全性验证也包括最终的产品。上市前化妆品中使用的每一种成分和最终产品均应充分地证实其安全性。任何这些成分或产品，其安全性在上市前没有得到充分的证实，将被视作假货，除非它在主要的标签上包含下列明显的陈述：警告——该产品的安全性还未被证实（21CFR, Par. 740）。

这些官方行为和需要向公众说明的是化妆品行业从总体上是准备接收化妆品、化妆用具和香水协会（CTFA）在 1976 年提出的责任，为了评价和检查化妆品中使用的成分的安全性。以成立化妆品成分评估（CIR）过程建立了一个

体系，能基于使用频率、使用浓度、使用范围、敏感人群的应用频率、生物活性的可能性，以及消费者的埋怨，将成分按好坏进行排序。这是全世界数据的科学评估，来自于行业界和消费者群体的不投票成员参与了该审议。为了加快审核过程，避免重复，CIR 专家小组也许采纳已经由其他安全项目审核的研究结果。其中，最重要的是芳香材料研究所（RIFM）和香料提取制造商协会（FEMA）的研究结果。前者建立了芳香物质的安全性，它的基金和利益允许为了物质的安全测试而投资。后者的研究与单个香料的安全性有关。CIR 小组的审核可以从 CTFA（1101 号第 17 大街，N. W. 华盛顿特区，20036-4702）得到，并在 *Journal of the American College of Toxicology* 上连续发表数年了。

尽管 CIR 项目由 CTFA 赞助，后者进行被认为对于化妆品工业是关键的化合物的安全性研究。CTFA 也建立并资助研究，该研究要求确认不同的化妆品成分的稳定性、化学纯度和安全性。这些活动是化妆品工业在技术上自我管理项目的一部分。制药工业也有类似的项目。

RIFM 已经推荐中止乙酰基四甲基四氢化萘、6-甲基香豆素、麝香梨和麝香酮的使用。另一种自我要求的成分限制是在含有各种烷醇仲胺的产品中使用潜在的含亚硝基化试剂，其依据是形成的亚硝胺的危害性。在欧盟，限制使用 3-乙醇胺和 2-乙醇胺。

在化妆品工业中重要的自我调整过程之一是对副反应的自愿报告。该项目的目的是给化妆品工业提供副反应的类型和发生频率，这些副反应是由消费者或其医疗顾问报告的。这是一种很重要的手段，用来发现没有在医院急诊室处理的问题（如记录在国家电子伤害监测系统，NEISS）或没有到达毒物控制中心的问题。

### 2. 实践方面

对于实际的处方调配，化妆品和药品之间的界限是不清晰的。药品标签上宣称的作用将药物和化妆品区别开来。然而，相同的或化学上相似的辅料和处方添加剂广泛应用在化妆品中和药品中。人们必须意识到化妆品可以包含药品中通常不用的组分。这些相似性或差别见表 2。被美国法律认为是药物的物质没有列在该表中。表 2 的列举是不全面的，只是为了说明问题。

表 2 中第 3 栏的组分的用途明显是重叠的。

表 2 化妆品和药物中常用的部分组分

功能	主要用于化妆品	化妆品和药物
摩擦剂	燕麦片	磷酸二钙
吸收剂		高岭土，硅胶
消泡剂		二甲基硅油
抗氧化剂		抗坏血酸，BHA，BHT，生育酚
抗静电剂	N-月桂酰-β-丙氨酸，氯化硬脂酰二甲基苄胺 [CAS 68650-39-5]	

续表

功能	主要用于化妆品	化妆品和药物
黏合剂		亲水胶，聚乙酸乙烯酯，淀粉
填充剂		纤维素，硅胶
螯合剂		枸橼酸，EDTA 及盐，葡萄糖醛酸
清洁剂	三乙胺十二烷基硫酸乙酯，十二烷基甘氨酸三甲内盐	十二烷基硫酸钠，泊洛沙姆 188
辅乳化剂	虫蜡	脂肪醇
柔润药	杏仁油	可可豆脂，癸二酸二丁酯，己二酸二辛酯，十四酸异丙酯，羊毛脂，液状石蜡，角鲨烯
乳化剂	十二烷基硫酸钠[CAS: 13557-75-0]	烷氧基脂肪酸，烷氧基脂肪醇，脂肪酸盐，卵磷脂，单酸甘油酯，泊洛沙姆，聚山梨酯，脱水山梨糖醇酯
民间添加剂	植物和动物提取物，蛋白衍生物	
保湿剂	N-乙酰基乙醇胺，吡咯烷酮羧酸	甘油，山梨醇，尿素，乳酸钠
润滑剂（头发和皮肤）	貂油，透明质酸钠	椰子油，羊毛脂，橄榄油，凡士林
增塑剂	乙基苯磺酰胺	樟脑，癸二酸二辛酯
防腐剂	1,3-二羟甲氧-5, 5-二甲基乙内酰胺,季铵-15 [CAS: 4080-31-3]	咪唑烷基豚，对羟苯甲酸酯，苯氧乙醇
溶剂和减黏剂		丙酮，乙醇，乙酸乙酯，甘油，2-甲基-2, 4-戊二醇，异丙醇，丙二醇，甲苯
混悬剂	甲基萘磺酸钠[CAS: 26264-58-4]	卡波姆，纤维素衍生物，黏土
增稠剂		苯甲醇，聚乙烯，聚异丁烯，聚氧乙烯 14000，三硬脂酸甘油酯
紫外线吸收剂	丁基甲氧基苯甲酰	三唑甲酚

3. 化妆品的标签

一个很重要的与成分有关的主题是化妆品成分标签。宣传消费者的权利已经表明公众将从完全公开化妆品的组成中受益。按照 FDA 和 FPLA 法规，要求所有的化妆品在标签上说明以下信息：①产品名称；②净装量；③制造者、分装者或分销者的名称和地址；④产品中的成分主次顺序的列表；⑤提醒或警告内容 [21 USC321 (k)；15 USC 1459 (b)；21 CFR 701.10]。

除了上述的项目 4 外，处方药和 OTC 产品在写标签时存在相似的要求。关于在 OTC 药品标签上说明所有组分仍在考虑之中。化妆品的成分目录必须按其重要性降序排列，一些微量成分和颜色添加剂可以例外。为了达到识别的统一性，CTFA 不断为所有的化妆品成分建立方便的命名。命名过程同 USAN (US adopted name) 所使用的相似。许多化妆品成分的名称和化学描述已经被 FDA 审核和认可（目的是将这些名称用在标签上）。其结果是，在美国的化妆品标签上的命名原则和国际化妆品成分词典命名规则保持一致<sup>[1]</sup>。该办法已经被欧盟接受，欧盟也使用相同的名称（只做很小的修改）。名称的协调是一种持续的过程，以便使这些名称从语言上可以在世界范围内被认可。

基于安全性和性能的比较

1. 安全性

一般来讲，用户都知道处方药物更有可能比 OTC 药物产生副反应。这种明显的结果是这些产品的性质和分布系统造成的。处方药物的服用需要在医生的监护下进行，医生对监督患者的服药过程负有责任和更多的义务。然而，OTC 药物可能被那些未知情的人服用，他们并不总是能诊断出潜在的疾病或认识其副作用。在这方面，化妆品像 OTC 药物一样，除非化妆品在很长一段时间内反复使用。因此，实际上化妆品的安全性要求要比很多药物严格得多。制造商能忍受的化妆品的副反应或副作用的程度实际为零。在长期的反复使用中，对成分的潜在过敏性要特别关注。光敏作用是另一个现象，它导致一些化妆品成分从常规使用的清单中消失。

2. 优雅

对方药物来说，优雅不是主要的考虑，但是其对 OTC 药物的市场有影响，并有助于确保患者的顺应性。相对来说，任何对化妆品优雅（外观、气味、质地等）的偏



离特征将对其市场性和可接受性产生影响。事实上，优雅是一个成功化妆品的关键特征。

### 3. 性能

性能是用来区分化妆品和药品的关键之一。药物有效性的评价是基于对疾病的治疗和预防。FDA 已经明确具有治疗作用的化妆品为药品，其结果是，一些传统的化妆品通过 OTC 小组的程序被转变成药物。任何宣称这些 OTC 产品性能的术语均被限制于 OTC 小组审核过程中批准的词语。

化妆品（非药物）的宣传也许是，如源于时尚（颜色）、美容（隐藏瑕疵）、质地好（润肤的或润滑的）。这些及相关的宣传，容易察觉到和进行文字记录。当化妆品宣称其与年龄有关或与修复性的皮肤护理有关时，会出现更复杂的问题。在过去，各个法定机构许可化妆品进行吹捧宣传。近来，一些化妆品的宣传向消费者暗示这些产品具有一种与药物相似的效果，正如法规所定义的。一位食品和药品委员会成员认为这些宣传是大胆的<sup>[2]</sup>。广告暗示一个产品能营养皮肤，能主动引起麻刺感、缩紧皮肤、阻止皱纹的形成，由制药公司生产，有除皱整容的功能，如果产品没有这样的功能则广告是虚假的和误导的。另外，如果它具有宣传的功能则会被认为是药品。除了药物的结果外，对皮肤或头发有益处的宣传要求有文字说明是为了商业目的（广告和推广）。因此，宣传功效可能与 FTC 规则产生冲突。然而在欧盟，宣传有效要求法律上的证明。在欧洲有关说明化妆品功效的指南，但美国没有<sup>[3]</sup>。另外，FDA 有强有力的工具来停止未证实的宣传。一个除皱的宣传，即使是临时的，也会将化妆品变成药品。因此，化妆品工业和处方药工业一样被紧紧地控制着。任何时候当宣称一个已存在的药物成分有新的适应证，或者任何成分有类似药物的功能，必须进行新药申请。

### 4. 有效期

化妆品制剂不必在标签上说明失效时间。这并不意味着化妆品必须或的确显示不确定的稳定性。化妆品的物理、化学稳定性研究方法与处方药和 OTC 药物一致。由于化妆品不含活性药物，也许任何成分的化学稳定性对于产品的功能都是关键的：芳香产品的成分需要监测；卷发产品的功能可能依赖于酸碱度和还原剂的化学完整性。

物理稳定性影响化妆品的优雅，如乳剂的破乳，而且物理稳定性可以影响功效，如颜料沉淀在一种指甲油中，并且不能再重新分散了。止汗药在混悬型气雾剂中产生沉淀也会出现类似的不稳定性。在这些情况下，化妆品（指甲油）或 OTC 药物（止汗药）都不能实现其宣称的功能，可以认为其是假冒品或错标品。

因此，一般来说，药物和化妆品的化学稳定性和物理稳定性要求是相似的。在某些环境下，对物理稳定性的要求更高。例如，热带环境中在沙滩上经太阳暴晒后，或者极地环境下储存于滑雪小屋中，用于手和身体的洗液要能

发挥功效。

化妆品的微生物洁净标准是特别复杂的。与药物一样，出现下列情况时化妆品被认为是掺假的，如果：①它携带或含有任何有毒或有害物质，在正常情况下使用时会对消费者有害；②总体上或部分包含不洁的、腐烂的、已分解的物质；③如果在不清洁的环境中制备、包装或存储，它可能被污染或对健康产生伤害[Sect 601, FDCA]。

化妆品公司遵守 FDA 要求的 GMP 或 CTFA 公布的 GMP 在有关打扫、清洁、设备卫生、原材料和工艺用水的纯度等方面的规定。水是化妆品最终产品中的一种特别重要的成分。对其纯度要严格进行监测，以避免因疏忽将污染生物引入到产品中。由 FDA 建立的 GMP 在 21CFR, Part211 部分中可以查到，CTFA 已经出版了类似的建议，以质量保证指南的形式供化妆品生产用。

纯度的最后检查是针对产品的。含水量高和含有不需要的微生物的营养成分会使化妆品容易受到微生物污染。因此，外用 OTC 产品和化妆品要使用防腐剂，并在发货前做最后的检测。防腐剂和 GMP 通常能确保化妆品在运输中基本不受污染。CTFA 推荐的微生物要求如下：①婴儿用品，少于 500 个微生物菌/g；②眼用产品，少于 500 个微生物菌/g；③口服产品，少于 1000 个微生物菌/g；④所有其他产品，少于 1000 个微生物菌/g；⑤应无致病菌。

需要使用防腐剂以达到所希望的低微生物污染水平。一些液体化妆品不会支持微生物菌成长（如含酒精的需后水），然而，其他的则是很好的生长基质（如含蛋白的头发调理素）。因为消费者经常在正常使用产品期间引入微生物菌，一些化妆品制作商可能要求其产品是自我抑菌的。这是一个困难的任务，并不总能成功。因而需要对微生物水平进行最后检查。

### 5. 与健康护理提供者的关系

与制药工业一样，化妆品工业要求进行动物毒理和人体试验以建立其产品的安全性。一般来说，大多数化妆品在摄取时都是无毒的，尽管它们可能会导致轻度腹泻或呕吐。化妆品工业进行慎重的努力，不将摄取或局部应用能产生毒性综合征的产品上市。摄入的问题总是由毒物控制中心来处理，通常为儿童摄取（占 90%）。报道的死亡数字在 1971 年和 1978 年间为零。

皮肤科医师发现，尽管很多患者正确地使用化妆品，但仍有副反应的报道。化妆品工业界意识到应该提供使用期间不会导致刺激或过敏反应的产品。由于这个原因，化妆品工业依赖于各类型的贴剂和皮肤病学实验室的有关测试，以预测的方式建立指定产品的安全性。由此可以获得完整的试验方案，在产品上市前皮肤病学家要常规测试数百个项目<sup>[4]</sup>。

局部应用的药物和化妆品对皮肤有潜在的渗透性。对于外用药物（如各种抗炎的类固醇），局部渗透性就是一种希望的特征。化妆品渗透进入和穿过皮肤可能会引起不希望的反应，特别是当消费者在相同的部位使用两种或两种

以上的产品时。因此,与局部使用的外用药相比,化妆品应保留在皮肤上,保持渗透性最小。皮肤病学家也推荐化妆品给患者用,如当皮肤干燥或裂开时。很明显,化妆品工业-医师-消费者的关系与现存的制药工业相比没有很大的区别。

## 化妆品还是药品?

处方设计者和市场营销者都想知道:对于一种给定的产品,它究竟是化妆品还是药品?对于有些产品,答案几乎是显而易见的。在美国,如果一个产品以药品的形式进行宣传,那么该产品就是药品。如果要加入一种有治疗作用的新的化学实体,就必须进行 NDA,包含该类物质的产品自动会被看成是药品。一个典型的例子是加入了紫外线吸收剂的防晒类产品,该产品并未由 OTC 专门小组审核,但是以前是用作防晒物质使用。尽管该存在疑问的产品被认为是药品,但是 FDA 裁定它使用了一种未被批准的新型药物。在化妆品中加入了 OTC 认可的防晒物质,却并没有宣传它的防晒活性,而是指明该产品含有一种能减少紫外线引起的皮肤衰老的防晒剂,于是在美国它就成为一种药物。

含有 OTC I 类抗生素的肥皂变成一种药物。这引起了另一个有意思的问题。肥皂可能使用了没有被认证的着色剂进行染色。加入了抗生素后,不仅要求该产品贴上药物标签,还要求用批准的着色剂重新设计处方。

一般来讲,产品到底是属于药品还是化妆品,取决于厂方的宣称和该产品的用途。氯化铝是一种 OTC I 类止汗药,它作为收敛剂使用时,并没有被确认是药物。有人注意到,某些 OTC I 类皮肤保护剂,如凡士林等,可以在化妆品中自由使用,只要不宣称其药物功效。以后也许会出现许多其他的问题,并且每一种可能都需要特定的判断。一个例子是,在化妆品中使用一种已批准的防晒剂以防止紫外线损害。由于使用防晒剂的目的明显与药物无关,因此该产品可能被认为是一种化妆品。

## 总结

根据美国法律,化妆品和药品是明显不同的。从原则上讲,化妆品不包含那些能够治疗或预防疾病、改变人体结构或功能的成分。化妆品的目的仅限于美化外观。

从很大程度上说,化妆品中使用的成分同药物中的是一致的,只不过它不包括那些能治疗、缓解或预防疾病的成分。

化妆品和药品对产品的稳定性和生产规范的要求实际上是相同的。

最后,在评判化妆品和药品的功效时,可以发现它们的明显不同。消费者根据产品的功能相对于改善外表的要求来评价化妆品;另外,评价药物则要基于它们预防或改善疾病的能力。

## 参考文献

1. Wenninger, J. A.; Canterbury, R. C.; McEwen, G. N., Jr. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*, 8th Ed.; The Cosmetics, Toiletries, and Fragrance Association; Washington, DC, 2000.
2. Hayes A. J. Jr. *Annual Meeting of the Cosmetics, Toiletries and Fragrance Association*; Boca Raton, FL, March 2, 1983.
3. COLIPA, *Guidelines for the Evaluation of the Efficacy of Cosmetic Products*; European Cosmetic, Toiletry, and Perfumery Association. Rue du Congrès; 5-7 B-1000; Brussels, Belgium, August 1996.
4. Marzulli, F.; Maibach, H. *Dermatotoxicology*, 5th Ed.; Hemisphere Publishing Corp.; New York, 1997.
5. Bachrach, E. E. *The FDA's Flexible Policy for Labeling Over-the-Counter Cosmetic Drugs: A Review and Analysis*. *Food Drug Cosm. Law J.* 1987, 42, 184-191.
6. Eierman, H. J. *Regulatory Requirements for Marketing Cosmetics in the United States*. *Drug Inf. J.* 1987, 21, 387-391.
7. Gilbertson, W. E. *FDA OTC Drug Standards Versus Cosmetic Standards*. *Drug Inf. J.* 1987, 21, 379-385.
8. Hyman, P. M. *Regulatory Risks of Marketing Drugs and Cosmetics*. *Drug Inf. J.* 1987, 21, 393-401.
9. Rogiers, V. *Efficacy Claims of Cosmetics in Europe Must be Scientifically Substantiated from 1997 On*. *Skin Res. Technol.* 1995, 1, 44-46.

(陈志明 译)



## H

## 环糊精包合技术

Gerold Mosher

Diane O. Thompson

CyDex, Inc., Overland Park, Kansas, U. S. A.

## 引言

络合是能有效增强药物理化性质的方法之一。络合作用是指由底物与配体可逆结合形成新物质。根据作用类型以及物质的差别,络合物可以简单地分为金属络合物、分子络合物、包合络合物和离子交换复合物。环糊精类是包合络合物形成的典型代表。这类络合物是由部分或全部的客分子以非共价结合包嵌于主分子内形成的。包合物形成后,通常可以发现客分子的理化参数发生改变,如溶解度增加、稳定性提高、不良气味被掩盖、安全性提高以及生物利用度改善等。

环糊精可以与很多不同类型的复合物形成包合物,因此,40多年来它作为一种新型辅料得到了广泛关注和研究。环糊精是由 Villiers<sup>[1]</sup> 在 1891 年最先发现的,他从土豆淀粉中用芽孢杆菌通过培养基分离出一种晶状的物质。1903 年, Schardinger<sup>[2]</sup> 对这种特殊的晶状糊精进行了评估,提出了它的环状构型,但环糊精完整的化学结构直到 20 世纪 50 年代才确定下来<sup>[3,4]</sup>。其结构经酶反应鉴定与环糊精葡萄糖转移酶 (CGTase) 的产物相吻合并且与环糊精空腔的络合特性识别相一致。之后的三四十年间,广泛的研究工作使得人们能够大量生产各类母体环糊精。

随着环糊精价格下降以及利用率的提高,使得在该领域的科研力度也逐步增强。环糊精在药剂学方面的应用价值已经越来越受到关注,且各种环糊精衍生物被制备用于改善药物的各种性质,如包合能力、溶解性以及安全性等。

两年一次的环糊精国际会议及其刊物报道了环糊精在生物医药、食品以及化妆品等方面的最新研究进展。

1967~1985 年的 19 年间,有 400 多篇文献报道了环糊精在药剂学上的应用。1986 年, Uekama 和 Otagiri 考察了其中约一半的文献<sup>[8]</sup>。自 1986 年起搜索到的文献数目显示出期刊论文的数量增长了 3 倍多,并且专利文献数目增长也很快 (图 1)。这些论文开发了环糊精的研究应用价值,而专利数的增长则显示出人们对环糊精类药物产品进行商业保护日益浓厚的兴趣。

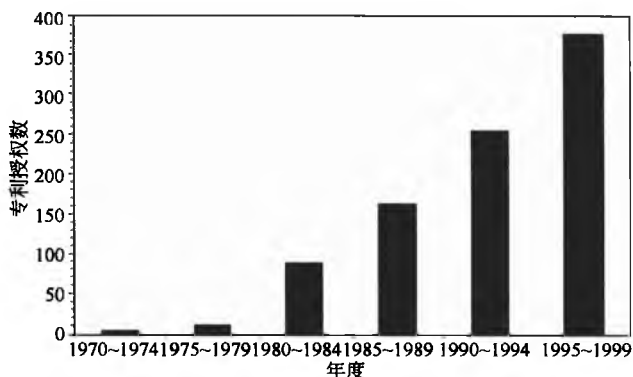


图 1 环糊精应用于药剂的专利授权数 (数据来源于 1967~1999 年《化学文摘》)

环糊精制剂的商业价值可以从 20 个上市产品中看出 (表 1)。这些产品中有 2 个在美国上市,其中一个产品 (口服及静脉给药) 包含一种环糊精衍生物,另一个产品含有  $\alpha$ -环糊精。在美国,许多用到环糊精的制剂正在申请或正处于临床研究阶段,至少有一种正在接受新药申请的审批。

表 1 环糊精药物制剂产品<sup>[6]</sup>

药物产品	商品名	公司	国家
前列腺素 E <sub>1</sub> /α-CD	保坦丁	小野制药株式会社	日本
动脉内输液	保达新	许瓦兹制药	德国, 意大利
海绵体注射剂	Edex	许瓦兹制药	美国
头孢替安己酯盐酸/α-CD 片剂	头孢噻乙胺唑	武田制药	日本
吡罗昔康/β-CD	许多	许多	比利时
片剂			巴西
栓剂			法国

续表

药物产品	商品名	公司	国家
口服液			德国
			意大利
			荷兰
			斯堪的纳维亚
			瑞士
右美沙芬/ $\beta$ -CD	Rynathisol	圣德拉堡公司	意大利
前列腺素 E <sub>2</sub> / $\beta$ -CD 舌下片	地诺前列素 E	小野制药株式会社	日本
卞奈酸酯/ $\beta$ -CD 胶囊	Ulgut Lonmiel	帝国制药盐野义制药	日本
碘/ $\beta$ -CD 漱口液	Mena-Gargle	Kyushin	日本
地塞米松/ $\beta$ -CD 软膏	Glymesason	藤泽制药	日本
硝酸甘油/ $\beta$ -CD 舌下片	Nitropen	化药株式会社	日本
头孢托仑酯/ $\beta$ -CD 片剂	Meiact	明治制药	日本
尼美舒利/ $\beta$ -CD 片剂	Nimedex	意大泛马克大药厂	意大利
	Mesulid Fast	诺华制药	瑞士
		勃林格殷格翰公司	德国
噻洛芬酸/ $\beta$ -CD 片剂	Surgamyl	Roussel-Maestrelli	意大利
氯氮革/ $\beta$ -CD 片剂	Transillium	Gador 赫素制药	阿根廷
奥美拉唑/ $\beta$ -CD 胶囊		Hexal	德国
OP-1206/ $\gamma$ -CD 片剂	Opalmon	小野制药株式会社	日本
氯霉素/Me- $\beta$ -CD 滴眼液	Clorocil	Oftalder	葡萄牙
西沙必利/ HP3- $\beta$ -CD 栓剂	Prepulsid	Janssen-Cilag	比利时
双氯芬酸/ HP3- $\beta$ -CD 滴眼液		Ciba Vision	瑞士
齐拉西酮/ SBE7- $\beta$ -CD	Zeldox	辉瑞	瑞典
肌内注射			美国 (NDA 期)
伊曲康唑/ HP3- $\beta$ -CD	Sporanox	杨森	美国
口服/静脉注射液			比利时

如今,上市的环境糊精制剂产品不断增加,其研究开发、申请专利的数量也呈指数级增长。然而,将环境糊精应用于常规药物制剂仍然受到置疑。由于目前还没有关于环境糊精的明确标准,因此,很多人不愿开发含有这种非标准无活性辅料的制剂。

## 包合物与环糊精

环糊精(CD)是由6个、7个或8个吡喃型葡萄糖分子组成的环状低聚糖,分别命名为 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$ 环糊精。每个葡萄糖分子在C-2和C-3位有两个仲羟基,C-6位有一个伯羟基,这为环糊精的化学修饰及衍生化提供了18~24个反应位点(图2)。根据文献报道,已经有大量的环糊精衍生物被制备。由于衍生物以及同分异构体过多,必须采用合适的命名法则来给它们命名。命名中应当包含环糊精母

体( $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$ -CD)以及取代基的类型和数目。取代基通常以缩写形式放在环糊精母体之前。有需要的话还可以对取代基团进一步描述。例如,羟丙基上的羟基可以在丙基上的任意一个碳上。这种异构现象可以在HP(羟丙基)之前用数字标注,并且用括弧括起来。最常见的羟丙基衍生物是(2HP)- $\beta$ -CD,通常直接称为HP- $\beta$ -CD。

取代基团后面的数字表明了每个分子上取代基团的平均个数,通常用最接近的整数来表示。例如,HP4- $\beta$ -CD表明每个 $\beta$ -CD平均有4个羟丙基。这是由摩尔取代度(the molar degree of substitution, MS)得出的。同时也标示了取代基和环糊精分子的摩尔比。4个取代基可以是在4个不同的羟基上,也可以是一个羟基上衍生了1条带有4个羟丙基的碳链。这种无序性使得单位摩尔取代度得出的数值可以是环糊精环的平均取代基数,也可以仅仅是葡萄糖环上的取代基数。后者恰好揭示了传统糖化学遗留的问题:



糖链的长度（即分子质量）并不具特征性。

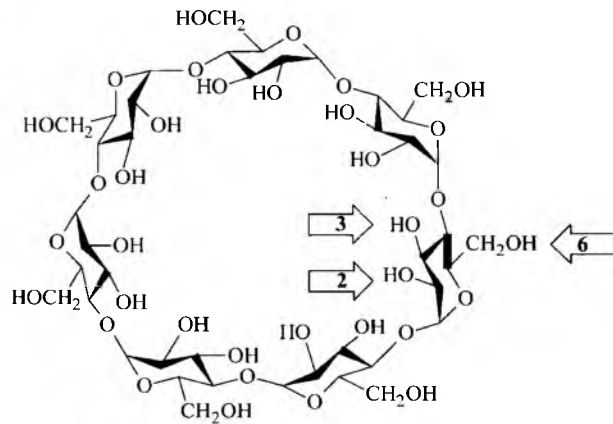


图2  $\beta$ -CD 的化学结构（箭头标出了葡萄糖分子中的 2-、3-和 6-羟基）

同样，取代度（the degree of substitution, DS）也描述了羟基衍生化的平均数。但它也无法区分环糊精环的平均取代数和葡萄糖环的平均取代数。因此，为了区分两者，我们使用环取代（ring substituents, RS）来定义整个环糊精环的平均羟基衍生化数以及 DS 来定义每个葡萄糖环的取代基数，然而这一概念并未得到广泛接受。这里，我们将使用摩尔取代度（MS）来表示环糊精环的平均分子取代数。

然而，无论我们用哪个概念来描述取代度，都无法获知取代基在糖基上的具体取代位置。只有取代基前面的数字才能指明取代基在糖基上的取代位置。如 6-SBE1- $\beta$ -CD 就是在 C-6 位有 1 个单分子置换的丁磺基醚。通常，取代基的引入过程是一个比较随机的反应过程，常以一定的分配方式发生在 2-、3-和 6-位。所以，取代基前常常没有数字来指示取代位置。如 HP4- $\beta$ -CD 表明 1 个环糊精分子有 4 个羟丙基取代，而这些取代随机分配在 7 个糖基的 3 个取代位点。表 2 列出了一些常用的环糊精以及它们的命名。

表 2 环糊精衍生物的取代基结构及命名

	取代位置	取代基团 <sup>1)</sup>	命名（# <sup>2)</sup> -XYZ <sup>3)</sup> # <sup>4)</sup> -CD <sup>5)</sup> ）
母体环糊精			
$\alpha$ -CD		—OH	$\alpha$ -环糊精
$\beta$ -CD		—OH	$\beta$ -环糊精
$\gamma$ -CD		—OH	$\gamma$ -环糊精
中性化衍生			
甲基化			
二甲基	2, 6-	O—CH <sub>3</sub>	2, 6-二甲基 14-环糊精
甲基	随机	—O—CH <sub>3</sub>	甲基 #-环糊精
三甲基	2, 3, 6-	—O—CH <sub>3</sub>	2, 3, 6-三甲基-环糊精
乙基化	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CH <sub>3</sub>	乙基 #-环糊精
羟烷基化			
2-羟乙基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> OH	(2 羟乙基) #-环糊精
2-羟丙基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CHOH—CH <sub>3</sub>	(2 羟丙基) #-环糊精或羟丙基-环糊精
3-羟乙基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> OH	(3 羟乙基) #-环糊精
2, 3-二羟丙基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CHOH—CH <sub>2</sub> OH	(2, 3-二羟丙基) #-环糊精
阴离子化衍生			
支链的衍生			
羧基	6-	—CO <sub>2</sub> M	6-羧基 #-环糊精
羧烷基化			
羧甲基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CO <sub>2</sub> M	羧甲基 #-环糊精
羧乙基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CO <sub>2</sub> M	羧乙基 #-环糊精
羧丙基	随机	—O—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CO <sub>2</sub> M	羧丙基 #-环糊精



续表

	取代位置	取代基团 <sup>1)</sup>	命名 (# <sup>2)</sup> -XYZ <sup>3)</sup> # <sup>4)</sup> -CD <sup>5)</sup> )
羧甲基乙基磺基化衍生	2-, 6-; 3-	-O-CH <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> M; -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	羧甲基乙基 #-环糊精
硫酸盐	2, 6-随机	-O-SO <sub>3</sub> M	硫酸 #-环糊精
烷基硫酸	6-	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -O-SO <sub>3</sub> M	烷基硫酸 #-环糊精
磺酸盐	6-	-SO <sub>3</sub> M	6-磺酸 #-环糊精
烷基磺酸盐			
磺乙基乙醚	随机	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -SO <sub>3</sub> M	磺乙基乙醚 #-环糊精
磺丙基乙醚	随机	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> M	磺丙基乙醚 #-环糊精
磺丁基乙醚	随机	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -SO <sub>3</sub> M	磺丁基乙醚 #-环糊精

- 1) M: 阳离子。  
2) 若有确切数字, 代表了取代基团的位置, 若没有标记, 则表示取代基位置不定。  
3) 标明了取代基团。  
4) 数字代表了平均取代度。  
5) 指明了环糊精的母体结构 (如 α-环糊精)。

由 3D 结构可以看到环糊精母体有一个疏水性的空穴结构 (图 3)。当药物的溶出度及溶解性限制了药物的传释时, 可将药物包裹在环糊精的疏水空穴内, 形成药物环糊精包合物, 就可增加药物在水溶液中的溶解度和稳定性, 提高药物的溶出速率和限度, 改善药物的生物利用度。环糊精的这些特性帮助难溶性药物建立了处方, 并且使得它们能与更多其他辅料一起制成各种剂型。现今, 我们可以得到多种具有不同包含能力的环糊精。我们需要建立合适的方法来评价它们的包含性能。

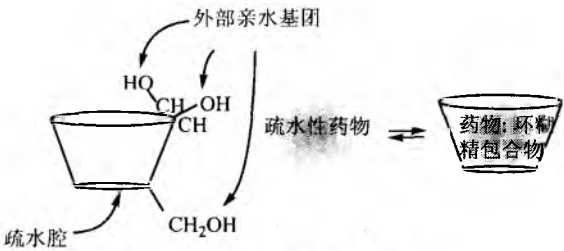


图 3 药物包裹于环糊精的疏水空穴内

环糊精与疏水性药物形成包合物是一个可逆平衡的过程 (图 4), 式 (1) 中以稳定性常数 (或结合常数) ( $K_{a,b}$ ) 来表示反应速率。

$$K_{a,b} = \frac{[\text{药物}]_a [\text{环糊精}]_b}{[\text{药物}] [\text{环糊精}]^b} \quad (1)$$

式中,  $a$ 、 $b$  分别表示未包含的药物分子与环糊精分子的摩尔数。结合常数的大小可以用来比较各种环糊精的结合效率。由于使用的环糊精类型、相对分子质量以及药物分子的理化性质的不同, 导致所形成的各种包合物的药物与环糊精分子比也不同。在稀溶液中, 如果药物恰好能进入环糊精空腔而被包含, 则药物与环糊精以 1 : 1 的摩尔比形成包合物。若空腔较大, 可以容纳 2 个药物分子, 则药物与环糊精以 2 : 1 形成包合物。反之, 如果药物分子较大, 几个环糊精分子才能将药物分子包合, 那么药物与环糊精以

1 : 2 或更高的比例形成包合物。尽管每种包合物都有其特定的化学计量, 然而, 在给定的系统中, 还是有可能产生一种以上的包合物。根据结合常数的计算, 可以得到包合物的化学计量值。



图 4 环糊精与不溶性药物分子形成可溶或不溶包合物的平衡过程

1. 包合物评价

相溶解度法是最常用的结合常数和结合率的定量方法之一<sup>[9]</sup>。该方法是在若干玻璃瓶或安瓿中加入相等质量 (过量) 的药物以及相等体积的溶剂, 接着, 分别加入不同浓度的环糊精溶液。密闭容器, 恒温振荡一定时间使溶解达到平衡。以药物浓度为纵坐标, 环糊精浓度为横坐标作相溶解度图, 来判断包合物的形成情况。通常, 形成的相溶解度图分为两类, A 型表示可溶性包合物的生成, B 型表示生成的可溶性包合物具饱和性。

由 A 型图可以看出, 随着包合物的不断生成, 药物溶解度逐渐增大。药物与环糊精结合生成了可溶性包合物, 因此增加了药物在溶液中的溶解度。根据形成包合物的不同, 相溶解度图可以是直线 ( $A_L$ )、正函数 ( $A_P$ ) 或反函数 ( $A_N$ ) 曲线 (图 5)。当每分子包合物包含一分子环糊精时, 形成直线图。当每分子包合物包含一分子以上环糊精时, 形成正函数曲线。反函数曲线较少见, 但当环糊精发生自我结合或者环糊精溶液浓度较高使得溶剂性质发生改变时会形成该曲线。

若生成的包合物的溶解度具饱和性, 则形成 B 型图。图 5 中, 从曲线  $B_S$  的  $xy$  区段可以看出包合物的形成增大

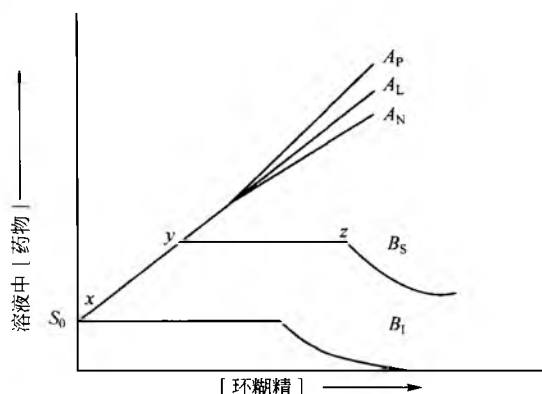


图5 不同类型的相溶解曲线图

了整体药物的溶解度,这与A型图相似。到达y点时,包合物溶解度达到最大值,此后,随着溶液中药物量增多,固体包合物形成。到达z点时,过量的药物被耗尽,再增加环糊精的量,药物将从溶液中析出。曲线 $B_I$ 解释了类似的情况,不同的是,形成的包合物不溶,因此,溶解度没有增大。

如果做一些假设,包合物的化学计量值可以从曲线的上升或下降段求出<sup>[9]</sup>。若药物与环糊精分子以1:1形成包合物,结合常数 $K_{a,b}$ 可以由相溶解曲线直线初始段的斜率和药物固有的溶解度( $S_0$ )求出,见式(2):

$$K_{1:1} = \frac{\text{斜率}}{S_0(1 - \text{斜率})} \quad (2)$$

除此之外,还可以用其他方法来确定结合或稳定常数,比如紫外分光光度法<sup>[10,11]</sup>、荧光法<sup>[12,13]</sup>、核磁共振法<sup>[14]</sup>、圆二色谱法<sup>[15,16]</sup>、电位滴定法<sup>[17]</sup>、微量量热法<sup>[18,19]</sup>、表面张力法<sup>[20]</sup>、膜渗透法<sup>[21]</sup>、电泳法<sup>[22,23]</sup>和冰点降低法<sup>[24]</sup>。还有色谱法,包括高效液相色谱法<sup>[25]</sup>、纸色谱法<sup>[26,27]</sup>和薄层色谱法<sup>[28,29]</sup>。

不同方法求得的结合常数通常是相关的。例如,用相溶解度法<sup>[30]</sup>和圆二色谱法<sup>[31]</sup>求地西洋与 $\beta$ -环糊精形成的包合物的结合常数分别为220 L/mol和208 L/mol。从苯氧喹啉和环戊噻嗪由相溶解度法(56 L/mol和165 L/mol)和紫外分光光度法(60 L/mol和178 L/mol)求出的数值可以看出相关性较好。

尽管上述这些方法得出了相似的结果,但是 $\beta$ -环糊精与免疫调节剂FCE24578的结合常数并不如此,由相溶解度法得出的结合常数为680 L/mol,然而由紫外分光光度法得出的数值是其4倍多。这种偏差是由于包合物的高度有序性使得光谱结构发生改变,而在计算紫外结合常数时并未加以说明。当以荧光强度和HPLC两种方法来计算炔雌醇、雌三醇与 $\beta$ 和 $\gamma$ -环糊精的结合常数时也会出现矛盾。当它们与 $\beta$ -环糊精形成包合物时,荧光分析法得到的结合常数比HPLC法得到的低,但与 $\gamma$ -环糊精形成包合物时,这两种方法得到的结合常数相吻合。

pH环境也会对某些方法求算结合常数产生特殊影响。

在pH10的环境中,阿霉素<sup>[33]</sup>与 $\gamma$ -环糊精以1:1形成包合物,其结合常数以紫外分光光度法和圆二色谱法得到的值分别是617 L/mol和718 L/mol。然而,当pH降低至7时,则不能得到相近的结果。在pH7的环境中,由紫外分光光度法得到的结合常数为235 L/mol,而圆二色谱法得到的结合常数则为977 L/mol。因此,在特定的环境中,每种药物都有其特定的结合常数,而这些差异则反映出了药物的离子化状态对分析方法的影响。

总体来说,仅当分析方法相同或者环境对分析方法没有影响时,结合常数才可以作为评价结合效率的指标。尽管处方研究时相溶解度法是一种合适的定量方法,但涉及浓度变化时,这种方法不能真实地反应热力学变化,故不再适用。

## 2. 影响包合作用的因素

### 2.1 空间效应

环糊精可以与跟它的空腔尺寸合适的药物形成包合物。若药物分子的某些基团或者是侧链能贯穿于糖基分子中,那么比空腔大得多的药物分子也能与环糊精形成包合物。 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$ -环糊精这三种环糊精母体的内径各不相同,使得它们能与不同大小的药物分子结合形成包合物。环己烷能与这三种环糊精形成包合物,但由于分子大小的关系,蔡不能与内径最小的 $\alpha$ -环糊精形成包合物,而蒽只能与内径最大的 $\gamma$ -环糊精形成包合物。

环糊精羟基的衍生化会影响到客体分子所需的条件。庞大的衍生基团会在空间上阻碍药物分子进入环糊精空腔。然而,一些基团由于它们的数量、柔性以及所处的位置不同,还能使环糊精的空腔扩展,使其具备更好的包合能力。通常,3-和6-位的取代会使得空腔变小,而2-和6-位的取代则使得空腔变大。氟吡洛芬、溴西洋、硝西洋与2,6-二甲基 $\beta$ -环糊精的结合常数分别是它们与 $\beta$ -环糊精的2.3倍、2.9倍和3.8倍,而它们与2,3,6-三甲基 $\beta$ -环糊精的结合常数还不到与 $\beta$ -环糊精结合的一半。

环糊精上的取代基数目(取代度)也会对其包合能力产生一定影响。Müller和Brauns<sup>[38]</sup>指出,在0.04 mol/L羟乙基 $\beta$ -环糊精溶液(5%,质量浓度)中,当取代度由3增加到11时,氢化可的松的溶解度由10.98 mg/mL降低到5.76 mg/mL。对洋地黄毒苷、地西洋和吲哚美辛也有类似作用。这种溶解度降低是由于增加的羟乙基取代基数导致了空间位阻变大而产生的。此外,还有一种解释是在制备高取代度的产物时,羟乙基发生了聚合,大量的侧链聚集在一起而使得空腔的入口变得拥挤。

羟丙基基团较大,因此,取代度越低其结合常数越高。Müller和Brauns<sup>[38]</sup>考察了取代度对包合能力的影响(表3),得出了羟丙基取代度越低(2~5),越有利于包合作用的结论。从表3中可以看出,随着取代度的增加,6种不同药物的溶解度都降低,但当取代度为4~8时,药物的溶解度变化不大。

表3 取代度对羟丙基- $\beta$ -环糊精与药物包合物的影响<sup>[39]</sup>

药物	25℃, pH 7.4 条件下药物在羟丙基- $\beta$ -环糊精溶液中的溶解度 <sup>1),2)</sup>			
	MS=2.03	MS=4.83	MS=7.84	MS=8.47
地高辛 <sup>1)</sup>	13.12	6.39	3.76	3.70
洋地黄毒苷 <sup>1)</sup>	8.06	4.51	1.96	2.36
左卡巴司汀 b <sup>2)</sup>	2.20	0.45	0.31	0.09
吲哚美辛 <sup>2),3)</sup>	6.93	8.12	6.63	8.57
氢化可的松 <sup>2)</sup>	19.03	13.43	10.46	10.38
地西洋 <sup>2)</sup>	0.72	0.67	0.44	0.46

1) 5% 羟丙基- $\beta$ -环糊精溶液。2) 10% 羟丙基- $\beta$ -环糊精溶液。

3) pH 7.4; 离子化吲哚美辛。

在取代基产生空间位阻和扩张疏水空腔之间有一个平衡状态。Yoshida 等<sup>[40]</sup>指出, 6mol 取代度的 3-羟丙基取代 ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ )  $\beta$ -环糊精比其他取代度具有更高的结合常数, 很显然, 这是由于疏水空腔的扩展造成的。然而, 相等取代度的 2, 3-二羟丙基取代 ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$ ) 则使得结合常数降低。据推测, 尽管 2, 3-二羟丙基比 3-羟丙基亲水性强, 但由于其具有较大的空间位阻, 因此可能并不能扩展环糊精的疏水空腔。

环糊精在形成包合物和改善亲水性之间也有一个平衡过程。Rao 等<sup>[41]</sup>指出增加 (2 羟丙基)- $\beta$ -环糊精的取代度可以增加药物亲水性, 但不利于包合物的生成。图 6 显示了酚酞包合物的影响因素。

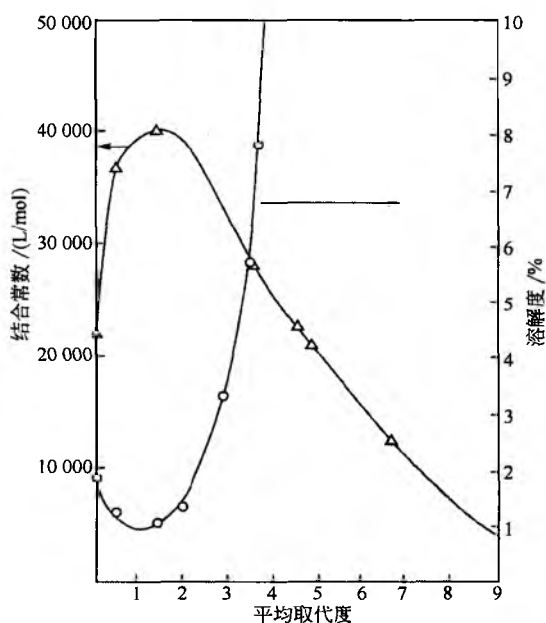
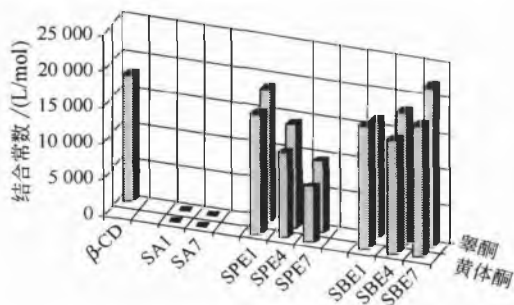
图6 2-羟丙基- $\beta$ -环糊精取代度的变化对酚酞包合物的结合常数 ( $\Delta$ ) 和溶解度 ( $\circ$ ) 的影响<sup>[41]</sup>

图7对几种磺丙基醚和磺丁基醚衍生化的 $\beta$ -环糊精与睾酮和黄体酮形成的包合物进行了评价。取代度的增加会导致包合作用的空间位阻增加, 但是 1, 4, 7 取代的磺丁基醚 $\beta$ -环糊精均显示出了较好的结合能力, 且与 $\beta$ -环糊精的结合常数相近。磺丁基醚取代的行为与十一烷基磺酸环糊精相似, 但其饱和作用不仅与环糊精空腔有关, 也涉及了丁基的疏水手臂。

图7 疏水类固醇睾酮和黄体酮与 $\beta$ -环糊精和阴离子衍生化 $\beta$ -环糊精的结合常数比较。SA: 6-位磺酸基取代; SPE: 磺丙基醚取代; SBE: 磺丁基醚取代<sup>[6]</sup>

## 2.2 电子效应

环糊精空腔边缘电荷效应: 与环糊精空腔最近的离子化衍生是羧基化、硫酸根化和磺酸化。羧基化 $\beta$ -环糊精的包合性能一直没有被报道。但是, 高度阴离子化的硫酸环糊精 (S14- $\beta$ -CD) 并不能形成包合物<sup>[45]</sup>, 这可能是由于 14 个硫酸根取代导致过大的空间效应或者是环糊精的高度离子化状态。

图7考察了两种类固醇与磺酸化、磺丙基醚化和磺丁基醚化环糊精的作用, 显示了近似电荷对环糊精包合作用影响<sup>[44]</sup>。电子效应比空间效应对包合作用的影响更大, 因为 $\beta$ -环糊精仅在 6-位有一个磺酸基取代 (6-SA1- $\beta$ -CD) 时, 就失去了包合能力。睾酮与中性 $\beta$ -CD 的结合常数为 17 800 L/mol 而它与 6-SA1- $\beta$ -CD 的结合常数仅为 64 L/mol。环糊精空腔边缘仅有一个负电荷就能瓦解包合作用的热力学动力。

当一个磺酸基 (SA1) 直接连接在环糊精分子上时, 环糊精分子与类固醇的结合能力最小, 但如果磺酸基所带的电荷被一个 3 碳的丙基 (SPE1) 或者 4 碳的丁基 (SBE1) 基团移走,  $\beta$ -环糊精分子的结合能力恢复。单分子磺丙基或磺丁基衍生化使 $\beta$ -环糊精可以与睾酮和黄体酮结合形成包合物。这就说明如果离子化取代基与环糊精空腔距离太近的话会破坏形成包合物的热力学动力。若能空腔边缘的电荷移开, 可以重塑空腔的包合特性, 但这还要取决于分子结构中的电荷密度。

电荷密度的影响: 如果将磺丙基从单取代增加到 4 取代或是 6 取代, 环糊精分子的电荷密度增加, 其与类固醇的结合能力下降。但如果把磺酸根离子接到 4 个亚甲基以外, 那么电荷密度不会影响到它与类固醇的结合。磺丁基

醚 1、4、6 取代的  $\beta$ -环糊精分子与类固醇分子的包合能力与  $\beta$ -环糊精分子母体的包合能力相当。

环糊精和药物分子带电状态的影响：如果电荷不直接分布在环糊精分子的糖链上，离子化环糊精可以和中性疏水性药物分子形成包合物。带三个阴离子的 CM3- $\beta$ -CD 可以包合中性药物氢化可的松，其结合常数是中性  $\beta$ -CD 的

74%。虽然阴离子衍生化后，较中性环糊精结合效率降低，但阴离子化的 SBE- $\beta$ -CD 与中性药物相互作用得到的结果较好。Okimoto 等<sup>[46]</sup>报道了 SBE- $\beta$ -CD（表 4）与中性药物以 1:1 结合，其结合常数与中性的 HP- $\beta$ -CD 相当或更优。这种较好的结合能力可能是由于丁基形成的“胶束”手臂扩展了环糊精的疏水空腔。

表 4 药物与中性 HP- $\beta$ -CD 和阴离子 SBE- $\beta$ -CD 1:1 结合时药物带电状态的影响<sup>1)[6]</sup>

药物	中性药物 $K_a/(L/mol)$		阴离子药物 $K_a/(L/mol)$		阳离子药物 $K_a/(L/mol)$	
	HP- $\beta$ -CD	SBE- $\beta$ -CD	HP- $\beta$ -CD	SBE- $\beta$ -CD	HP- $\beta$ -CD	SBE- $\beta$ -CD
肉桂醛 <sup>2)[46]</sup>	22 500	69 700			4000	17 500
肉桂醛 (1:2) <sup>2)[46]</sup>	494	—			6	—
达那唑 <sup>3)[47]</sup>	76 600	94 900				
地高辛 <sup>4)[48]</sup>	4900	6880				
氢化可的松 <sup>4)[48]</sup>	1340	2150				
吲哚美辛 <sup>2)[46]</sup>	1590	4710	955	819		
kynostatine <sup>5)[49]</sup>	95	292			20	96
kynostatine (1:2) <sup>5)[49]</sup>	26	4			3	0
咪康唑 <sup>2)[46]</sup>	104 000	417 000			42 300	410 000
咪康唑 (1:2) <sup>2)[46]</sup>	45	12			11	<1
萘普生 <sup>2)[46]</sup>	1670	3600	331	432		
罂粟碱 <sup>2)[46]</sup>	337	1000			17	94
苯妥英 <sup>4)[48]</sup>	1070	756				
黄体酮 <sup>4)[48]</sup>	11 200	18 300				
睾酮 <sup>4)[48]</sup>	11 600	22 500				
噻苯咪唑 <sup>4)[46]</sup>	136	443			7	56
华法林 <sup>4)[46]</sup>	2540	10 100	509	262		

1) 除非另有说明，为 1:1 包合的结合常数。

2) HP=Encapsin<sup>TM</sup> MS=3.5；SBE- $\beta$ -CD MS=7。

3) HP=Roqueteet MS=未报道；SBE- $\beta$ -CD MS=7。

4) HP=Molecusol<sup>®</sup> MS=7~8；SBE- $\beta$ -CD MS=7。

5) HP=Molecusol<sup>®</sup> MS=7~8；SBE- $\beta$ -CD MS=4。

药物和环糊精都带电荷时，会产生静电效应。带阴离子的吲哚美辛和带双阴离子的羧甲基- $\beta$ -CD (CM2- $\beta$ -CD) (38) 形成包合物时会发生电子效应。在 pH=6.6 的条件下，吲哚美辛以阴离子状态存在，此条件下，由于静电排斥作用，羧甲基环糊精不能包合吲哚美辛。然而，带三个阴离子的 CM3- $\beta$ -CD 却可以与阴离子形式存在的华法林和吲哚美辛形成包合物，其包合常数分别为中性  $\beta$ -CD 的 71% 和 60%（表 5）。

表 5 药物带电状态对其与中性  $\beta$ -CD 和带负电 CM3- $\beta$ -CD 结合常数的影响

药物	药物带电状态	$\beta$ -CD 结合常数/(L/mol)	CM3- $\beta$ -CD 结合常数/(L/mol)
氢化可的松	中性	6200	4600
吲哚美辛	负电	620	250
华法林	负电	520	150
普萘洛尔	正电	220	400

羧甲基衍生化实验表明电荷在药物分子上分布的位置会影响环糊精与药物分子的相互作用。SBE取代中丁基的距离可以削弱相同电荷的排斥作用。表4中以阴离子形式存在的吡啶美辛、萘普生与带负电的SBE- $\beta$ -CD形成包合物的结合常数与中性HP- $\beta$ -CD几乎相当,而SBE- $\beta$ -CD与带负电的华法林的结合常数比HP- $\beta$ -CD低得多,这就说明了电荷在药物分子上的位置以及其与环糊精上的电荷的相互作用对包合物的形成都非常重要。

带正电药物与带负电的环糊精能发生静电吸引作用形成包合物。从表5可以看到,带正电的普萘洛尔与带负电的CM3- $\beta$ -CD作用时,由于静电吸引作用使得包合能力增强。表4中SBE- $\beta$ -CD与带正电荷的桂利嗪、咪康唑、噻苯咪唑的结合情况也可以得到类似结果。

与中性环糊精比较,离子化环糊精的不同之处在于,药物与它们不能形成1:2或1:3的包合物。由于静电排斥作用,离子化的环糊精不能形成高度有序的包合物。当电荷密度增加,排斥作用也随之增大。Rajewski等<sup>[50]</sup>验证了当SBE- $\beta$ -CD的电荷密度由1增至4再增至7时,其对胆固醇的增溶作用降低。好在药物与SBE- $\beta$ -CD能有效地形成1:1包合物,不能形成1:2包合物,因此,在实际操作中并不会产生不利影响。

### 2.3 温度、辅料以及溶剂的影响

包合物的形成是一个平衡可逆的过程,结合过程受到体系温度的影响。大多数情况下,温度升高,结合常数降低。例如,当温度从25℃分别升至35℃和45℃时,中性萘

普生与 $\beta$ -CD的结合常数分别由1379 L/mol降低至975 L/mol和778 L/mol。尽管结合常数降低,药物在环糊精溶液中的溶解性会随着温度的升高而增加,这是由于温度升高能改善游离药物本身的溶解性(图5中的 $S_0$ )。

由于能与药物竞争环糊精的疏水空腔,因此有机溶剂<sup>[54~56]</sup>会降低药物与环糊精的包合作用。有机溶剂还会减小大多数环糊精以及包合物的溶解性。最近,Loftsson等<sup>[57]</sup>和Redenti等<sup>[58]</sup>报道了使用亲水性聚合物和羧基酸能增加环糊精和药物的包合作用并改善其溶解性。

### 3. 包合物中药物的释放

药物被环糊精包合后,能改善其传释特性,同时也不会影响药物活性,因为包合是一个快速可逆的过程。在水性溶剂中,药物-环糊精包合物不断地形成和解离,它们的寿命只有几毫秒甚至更短<sup>[59,60]</sup>。尽管解离动力学常数越低结合力越强,但总体来说其频率相当快,几乎是在瞬间发生的。给药后,药物被稀释,从包合物中释放出来。有时,由于内源亲脂性物质的竞争取代作用,血浆和组织细胞与主分子结合,使得药物不被组织摄取,并快速从环糊精中消除<sup>[61]</sup>。

图8说明了稀释对不同结合常数的包合物的影响。大部分药物-环糊精包合物的结合常数在100~20 000 L/mol之间,从图8中可以看到1:100稀释会使药物的包合率由100%降低到30%。1:100稀释很容易在静脉注射和胃肠道给药中达到。

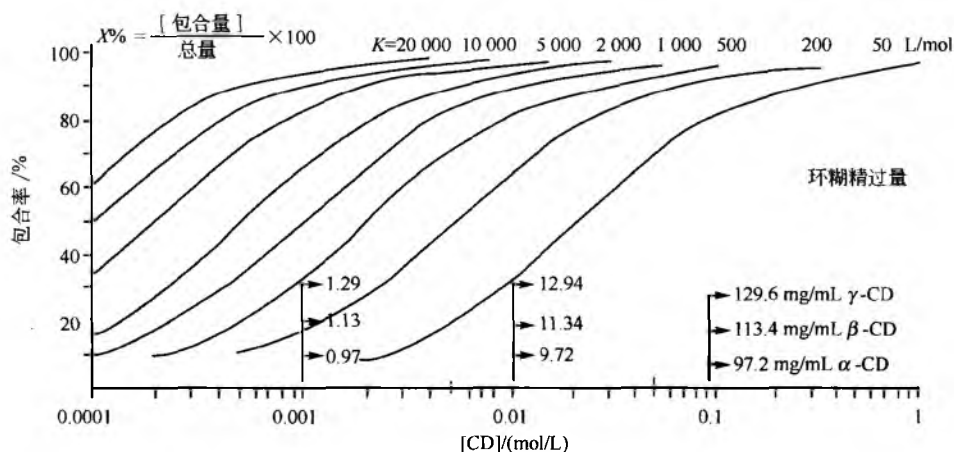


图8 不同结合常数药物包合率和环糊精浓度的关系<sup>[62]</sup>

然而,如果药物通过眼部、黏膜或是经皮给药时,稀释作用大大减小。这些情况下,药物仍能被亲脂性物质从环糊精空腔中竞争性取代,如甘油三酯、胆固醇、胆盐和在其他在药物释放位点的高浓度的疏水性物质。

## 包合物在药剂学上的应用

### 1. 改善溶解性、溶出度和生物利用度

环糊精能增加难溶性药物的水溶性,药物-环糊精包合物显示出比其他剂型更优的溶出能力。当药物的溶解度和

## H

溶出速率限制了药物的吸收时,以上两种特性提供了一种改善药物的口服生物利用度的方法。例如,盐酸头孢替安在胃的酸性环境下形成凝胶状,溶出效果不佳。制剂中添加了各种辅料来防止药物凝胶化,其中,采用 $\alpha$ -CD包合药物显示出了最佳的溶出效果和药物的溶解性<sup>[63]</sup>。

另一个例子是钙离子通道阻断剂——桂利嗪。这种药物制成混悬剂或胶囊后,口服生物利用度很低[分别为 $F=(8\pm 4)\%$ 和 $F=(0.8\pm 0.4)\%$ ]。若与SBE $\beta$ -CD或HP- $\beta$ -CD形成包合物后制成溶液剂( $F=55\%\sim 60\%$ )或胶囊剂 $[F=(38\pm 12)\%]$ ,生物利用度显著提高。形成包合物后,药物的溶解性和溶出度改善,因此生物利用度增加。

关于包合物改善药物溶出度和生物利用度的作用有大量文献报道,并且被广泛引用。涉及了各种环糊精、环糊精衍生物以及不同药物。另一些具有代表性的例子有螺内酯<sup>[65]</sup>、美可洛嗪<sup>[66]</sup>、酮洛芬<sup>[67]</sup>、奥沙西洋<sup>[68]</sup>、达那唑<sup>[69]</sup>、苯妥英<sup>[70]</sup>和甲苯磺丁脲<sup>[71]</sup>。尽管这些研究证明了包合物在改善溶出和生物利用度上的广泛应用性,但由于环糊精的量不能达到一些制剂的剂量使得包合物的应用受到限制。例如, $\beta$ -CD的相对分子质量为1135,若它与药物以5:1包合来促进药物溶解性,那么剂量为25mg的药物(相对分子质量为400)就需要350mg的环糊精。这就限制了能被制成包合物的固体口服制剂的药物的类型和剂量。

相比之下,溶液剂就没有这些限制,包合作用为需要非亲水性溶剂或者是大量溶剂的药物提供了新选择。一些环糊精衍生物(如羟丙基和磺丁基醚衍生)可以安全地通过胃肠道给药。因此药物经环糊精包合后,亲水性增加并能很方便地给药。衍生化环糊精常用于代替乙醇、聚乙烯乙二醇和油脂作共溶剂,同时也可用来制备乳剂和脂质体。羟丙基和磺丁基醚环糊精在溶液中稳定,能耐受高压灭菌,因此能增加药物的热稳定性。然而,据报道,环糊精包合物加入抗氧剂<sup>[72]</sup>和防腐剂<sup>[73,74]</sup>后,会减弱和增加其作用<sup>[75]</sup>。

## 2. 减少副作用、掩盖不良气味

增加药物的溶出速率和溶出限度能增加药物的吸收率。减少药物和组织黏膜的接触时间能降低药物对组织的刺激。非甾体抗炎药常会造成局部刺激并对前列腺素合成有抑制作用,从而引起胃肠道溃疡的发生。萘普生<sup>[76]</sup>、双氯芬酸<sup>[77]</sup>和吡罗昔康<sup>[78]</sup>与环糊精生成包合物后,有效地减少了急性局部组织刺激引起的胃肠道不适。含有环糊精的制剂比非环糊精制剂对于眼部给药<sup>[79]</sup>、静脉注射<sup>[80]</sup>、肌肉注射<sup>[81]</sup>以及细胞损伤筛选试验<sup>[82]</sup>的刺激性的要小。

环糊精包合物也能减少药物与味觉感受器的接触量,这对口服溶液剂的制备很有益。药物被包合后,环糊精空腔把药物屏蔽起来,同时,由于亲水性的增加使得苦味的药物很容易就能流过味觉感受器。因此许多药物制成包合物来掩盖不良气味,如溴化安胃灵<sup>[84]</sup>、溴化丙胺太林<sup>[85]</sup>、氯贝特<sup>[86]</sup>和扑热息痛<sup>[83]</sup>。

## 3. 增加药物稳定性

在药物制剂方面,环糊精通常被认为是一种稳定剂<sup>[87,88]</sup>。溶液或固体状态下,它们能使易发生水解<sup>[89]</sup>、水解脱卤<sup>[90]</sup>、氧化<sup>[91]</sup>、脱羧和异构化<sup>[92]</sup>的药物稳定。但它们也能加速这些反应的进程<sup>[93,94]</sup>。稳定性和失去稳定性取决于使用的环糊精(母体和基团衍生化)类型以及客体分子进入环糊精分子的位置。如果客体分子位于环糊精分子外面不稳定的地方,那么不会对药物的稳定性产生任何影响。如果结合的位置有水解环糊精羟基(或衍生功能团)的倾向,药物的稳定性降低。如果药物全部被包合在环糊精空腔内,其稳定性增加。

对于固体制剂,环糊精对易降解的药物具有稳定作用,许多药物已经被报道了,包括尼卡地平<sup>[95]</sup>、秋水仙碱<sup>[96]</sup>、前列腺素E<sub>1</sub><sup>[97]</sup>、双氯芬酸<sup>[98]</sup>和磺胺甲噁唑<sup>[99]</sup>。

环糊精的稳定作用不仅局限于小分子药物,大分子物质比如多肽和蛋白质形成包合物后也能增强其理化稳定性<sup>[100]</sup>。环糊精能与高分子物质表面裸露的功能团发生相互作用形成多包合物(几个环糊精分子包合一个高分子物质)。蛋白质与环糊精形成包合物后可以减少聚集反应的发生,环糊精与卵清蛋白、溶菌酶<sup>[101]</sup>、碳酸脱水酶<sup>[102]</sup>、胰岛素<sup>[103]</sup>制成溶液剂,与白蛋白、丙种球蛋白<sup>[104]</sup>制成固体制剂都得到了类似的结果。在变性蛋白质的重折叠过程中,环糊精包合物起到了模拟伴侣蛋白的作用。

药物被环糊精包合后,其稳定或去稳定作用的大小不仅取决于其从包合物中解离下来的速率,还与被包合的药物部分<sup>[88]</sup>以及药物和环糊精的化学计量有关<sup>[107]</sup>。通常,结合常数较高以及能形成高度有序包合物的化合物包合后稳定性增加。

## 4. 降低挥发性

一些挥发性物质<sup>[108,109]</sup>如香精、挥发油或挥发性药物也能制成包合物。例如,柠檬油<sup>[110]</sup>和其他调味剂<sup>[109]</sup>、氯贝特<sup>[86]</sup>、5-单硝酸异山梨醇酯<sup>[111]</sup>、硝酸甘油<sup>[112]</sup>等。环糊精包合物能减少药物的挥发性提高其稳定性。此外,可以将液体药物包合制成固体粉末,便于加工成固体制剂,同时也保留了原有液体剂型的优点。例如,制成栓剂使用时,加入液体就可减小硬度消除熔点<sup>[113]</sup>。

# 环糊精类

## 1. $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ -环糊精

环糊精,又称环状糊精、环状葡聚糖或环状淀粉,是由淀粉在环状糊精糖基转移酶作用下得到的,以 $\alpha$ -1,4-糖苷键连接而成的一种环状低聚糖。天然环糊精是由6,7或8个糖基组成的,分别命名为 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ -环糊精。由 $\beta$ -环糊精的化学结构(图2)可以看出分子呈环状,且每个糖基分子表面有3个羟基。其中两个为仲醇,分别位于C-2和C-3

位，另一个是位于 C-6 位的伯醇。这些羟基使得环糊精分子具有很强的亲水性（表 6）。

表 6  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -环糊精的性质<sup>[7]</sup>

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
糖基数目	6	7	8
相对分子质量	972	1135	1297
空腔内径/ $\text{\AA}$	4.7~5.3	6.0~6.5	7.5~8.3
25℃溶解度 (g/100 mL)			
水	14.5	1.85	23.2
甲醇	i	i	>0.1
50%甲醇	0.3	0.3	208
乙醇	i	i	>0.1
50%乙醇	>0.1	1.3	2.1
2-丙醇	i	i	>0.1
二甲亚砜	2	35	
丙二醇	i	4.3	
水中溶解度/ (g/100g)			
20℃	0.90	1.64	1.85
25℃	1.27	1.88	2.56
30℃	1.65	2.28	3.20
35℃	2.04	2.83	3.90
40℃	2.42	3.49	4.60
45℃	2.85	4.40	5.85
50℃	3.47	5.27	
55℃		6.05	

由 3-D 结构可以看到，环糊精分子就像一个截断的圆锥体，伯醇在锥体的一侧，仲醇在另一侧。由于 4 位糖苷键和 C-3、C-5 位氢键的存在，在锥体内侧形成了一个疏水空腔，从而可以包合疏水性药物。空腔大小各不相同， $\alpha$ -环糊精最小为 5.3  $\text{\AA}$ ，最大的是  $\gamma$ -环糊精为 8.3  $\text{\AA}$ （表 6）。

### 1.1 环糊精溶液性质

天然环糊精在水中的溶解度大小主要取决于温度（表 6）。 $\beta$ -环糊精在水中的溶解度特别低是因为一个葡萄糖分子上的 C-2 位羟基和相邻葡萄糖分子的 C-3 位羟基形成 H 键，造成了环糊精分子的刚性结构<sup>[114]</sup>。在  $\beta$ -环糊精分子上，可以形成一套完整的 7 个分子内氢键，这些氢键有效地限制了环糊精分子与溶剂的相互作用。在其他天然环糊精分子上，这个氢键条带的形成是不完整的，因此有利于  $\alpha$  和  $\gamma$ -环糊精与水分子的相互作用。这与观察到的  $\beta$ -环糊精比  $\alpha$  和  $\gamma$ -环糊精溶解热<sup>[115]</sup>小的现象是一致的。最近有研究表明，如果这些刚性  $\beta$ -环糊精发生聚集<sup>[116]</sup>，会使其溶解度变得更小。如果在溶剂中加入一些能使结构发生改变的物质比如尿素<sup>[117]</sup>、无机盐<sup>[118]</sup> 和亲水性聚合物<sup>[119]</sup> 等来破

坏聚合作用，能够增加  $\beta$ -环糊精的溶解度。

环糊精在大多数有机溶剂中的溶解度都很低（表 6）。在水和有机溶剂组成的共溶剂体系中，有机溶剂浓度增加，环糊精溶解度减小，但是，乙醇和丙醇例外，当它们达到 30% 时，环糊精溶解度最大<sup>[120]</sup>。

在碱性溶液中，环糊精比较稳定，而在酸性环境下， $\alpha$ -1, 4-糖苷键会慢慢断裂导致开环，并解离出葡萄糖分子和一系列麦芽糖。最初分子发生开环反应的速度比接下来水解环糊精链的速度慢 2~5 倍。初始的开环的动力学参数对制备包合物很重要，因为包合作用要求是完整的环状结构。70℃、0.2mol/L HCl 中  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -环糊精开环反应的半衰期分别为 25.2h、14.5h 和 7.1h。其他条件下的参数可以在文献中查阅<sup>[122]</sup>。

对溶液进行  $\gamma$  辐照，得到的反应产物相似<sup>[123]</sup>，但从晶体结构上来说，它们是不同的，并且不会形成葡萄糖分子。

### 1.2 环糊精固体性质

三种天然环糊精在固体状态下为结晶型，200℃ 以上会发生分解，没有固定熔点。不宜吸潮，但能形成几种稳定的水合物。图 9 为  $\beta$ 、 $\gamma$ -环糊精两相和  $\alpha$ -环糊精一相的水蒸气吸附等温线。相对湿度为 11% 时，一个  $\alpha$ -环糊精分子能吸收 4 个水分子，经一定时间后，形成含有 6 个水分子的稳定水合物。水的含量随着湿度的增加而缓慢上升，当相对湿度达到 79% 或以上时，平均每个环糊精分子能带 6.6 个水分子<sup>[124]</sup>。 $\alpha$ -环糊精能形成 4 种不同的结晶型：2 种包含约 6 个水分子、一种含 7.6 个水分子、另一种则不带水分子。

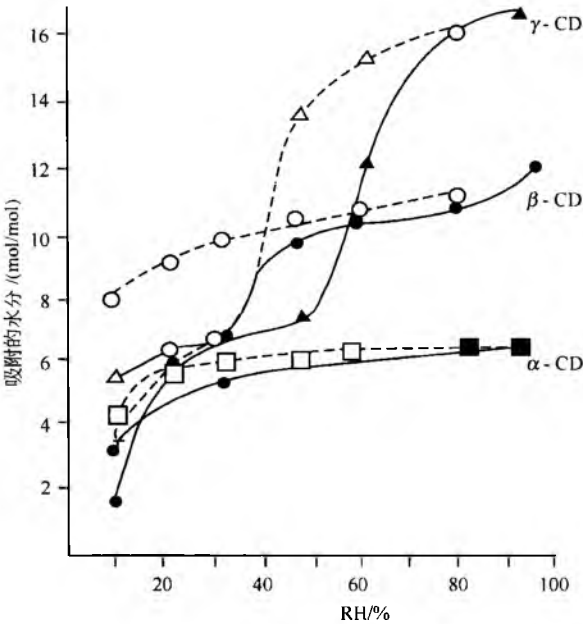


图 9 40℃ 下， $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -环糊精水蒸气吸附等温线（虚线：吸收，实线：解吸）<sup>[7]</sup>

## H

$\beta$ -环糊精的含水量随着湿度的增加而增加,当相对湿度在23%~31%时,有一个平坡,每分子含5个或6个水分子。当相对湿度达到60%~79%时,含水量又达到一个平坡。 $\beta$ -环糊精有3种结晶型:含12个水分子、含11个水分子和脱水型。11水合物会在存放一段时间后转变为在较大湿度范围内更稳定的12水合物。

由X射线衍射图可以发现 $\gamma$ -环糊精在各种湿度条件下也存在3种不同的结晶型。在低湿度条件下可以观察到脱水型 $\gamma$ -环糊精晶体,当相对湿度达到93.6%时,形成含17个结晶水的水合物。在中等湿度条件下,如相对湿度20%~30%时,有一个平坡,可以形成含7个水分子的水合物。无水型和高水量结晶体在水合和脱水过程中能形成含中等数量水分子的中间产物<sup>[124]</sup>。

## 2. 环糊精衍生物

制备并投入研究探索的环糊精衍生物约有几百种。然而,只有羟丙基化(HP)、甲基化(M)、磺丁基醚化(SBE)衍生物可以作为新型药用辅料。这些不同大小和电荷性质的取代基团与糖基上的一个或几个羟基发生反应而接到环糊精分子上。天然环糊精分别有18( $\alpha$ -CD)、21( $\beta$ -CD)和24( $\gamma$ -CD)个羟基可以发生衍生化。C-6位羟基是最活跃的反应基团,而C-3位的羟基衍生化较少。改变反应条件通常可以改变取代基的位置。制备同系衍生物时要特别注意仔细描述取代基的位置,具体命名法则参见前文。

能作为药用辅料的衍生物主要都是 $\beta$ -CD的衍生物:①平均取代度为14的甲基化 $\beta$ -CD(M14- $\beta$ -CD);②2种不同的羟丙基化 $\beta$ -CD,一种是平均取代度为3的[(2HP)3- $\beta$ -CD],另一种是平均取代度为7的[(2HP)7- $\beta$ -CD];③平均取代度为7的磺丁基醚 $\beta$ -CD(SBE7- $\beta$ -CD)。此外,含有单糖基( $G_1$ - $\beta$ -CD)或双糖基( $G_2$ - $\beta$ -CD)的葡萄糖基或麦芽糖基衍生物<sup>[127,128]</sup>显示出较好的应用前景。

### 2.1 甲基化

$\beta$ -环糊精上可以有1~18个甲基取代。环糊精甲基化后水溶性显著提高。其亲水性随着甲基数增加而增加,而当甲基数达到14后,亲水性又开始逐渐降低。2,6-二甲基14- $\beta$ -CD和2,3,6-三甲基21- $\beta$ -CD的溶解度分别为57和31 g/100 mL,相比之下, $\beta$ -CD母体的溶解度才1.8 g/100 mL。这是由于引入的甲基破坏了氢键,使环糊精分子极性增加。

甲基化环糊精的水溶解度与温度上升成反比,因此热压灭菌时会析出沉淀。甲基化环糊精混合物(M14- $\beta$ -CD)<sup>[129]</sup>则显示出较好的亲水性(>50 g/100 mL),且其水溶性会随着温度升高而增大<sup>[130]</sup>。

甲基化程度对包合作用的优化也很重要。在2-和6-位引入甲基有助于包合作用。2,6-二甲基14- $\beta$ -CD与许多药物的结合常数平均是 $\beta$ -CD的5倍。甲基的引入能扩展环糊精的空腔从而增加空腔的疏水性。然而,C-3位羟基的衍生化则会导致环糊精包合能力的降低,这是由于C-3位甲基

化会使得环糊精的环状结构扭曲造成的<sup>[131]</sup>。构象的变化还会影响环糊精衍生物在酸性溶液中的稳定性。60℃、1 mol/L HCl<sup>[129]</sup>中,自由甲基化的(2,3,6)甲基14- $\beta$ -CD和2,6-二甲基- $\beta$ -CD的水解半衰期分别为2.1h和12.0h,而相同环境下的 $\beta$ -CD的水解半衰期为5.4h。

虽然有部分甲基化发生在C-3位,但是自由甲基化 $\beta$ -CD仍保持了2,6-二甲基14- $\beta$ -CD的优良包合特性。有文献<sup>[129]</sup>证实了甲基14- $\beta$ -CD对26种药物的增溶效果比 $\beta$ -CD强得多,增溶作用约为纯2,6-二甲基14- $\beta$ -CD的80%。

因此,最有应用价值的甲基化环糊精应该定义为甲基取代发生在C-2、C-3和C-6位,平均取代度接近14的局部甲基化 $\beta$ -CD(M14- $\beta$ -CD)。这种材料具有良好的经济性,且其水溶性随温度升高而增加,包合能力接近2,6-二甲基14- $\beta$ -CD,比非取代的 $\beta$ -CD强。

### 2.2 羟丙基化

羟烷基 $\beta$ -CD是由 $\beta$ -CD在碱性溶液中,与环氧化物或卤代醇反应得到的<sup>[132,133]</sup>。工业上,用氧化丙烯或者碳酸丙烯来制备2HP- $\beta$ -CD。这一反应会同时发生在 $\beta$ -CD的伯醇和仲醇上,并得到一系列异构体的混合物<sup>[134,135]</sup>。因此,产物通常是无定形且具有高度水溶性的混合物。

2-羟丙基衍生物可以很便捷地从各个供应商得到,且已被用于大量的临床试验。Brandt等<sup>[136]</sup>、Muller<sup>[137,138]</sup>和Pitha<sup>[139]</sup>报道了2-羟丙基衍生物和其用途。羟丙基衍生物的取代度会影响到其包合能力,也对溶解性产生一定影响。单分子取代的(2HP)1- $\beta$ -CD的溶解度小于 $\beta$ -CD。但当取代基达到2.7个或更多时,衍生物固体呈无定形,且溶解度达到50% (w/v) (135)。羟丙基衍生物固体吸湿性小。25℃、75%相对湿度下,(2HP)- $\beta$ -CD比 $\beta$ -CD吸湿性小,且随着取代度上升,吸湿性减小。

因此,通常通过控制衍生物的取代度来调节和平衡环糊精的亲水性和包合能力。两种(2HP)- $\beta$ -CD产品:Encapsin和Molecusol,考虑到了两者的相互协调,提供了适当的亲水性和包合力。Encapsin和Molecusol的取代度分别为3和7。生产商还可根据不同需要来生产不同取代度的环糊精产品。这些(2HP)- $\beta$ -CD具有良好的包合性能,且溶解度超过50% (w/v),有利于制成非胃肠道给药制剂。

### 2.3 磺丁基醚化

Rajewski<sup>[48]</sup>通过在C-6位引入磺酸直接得到磺酸环糊精。Parmeter等<sup>[141]</sup>和Lammers等<sup>[142]</sup>制备了磺丙基化环糊精,通过烷基把磺酸的阴离子移走。

之后,Stella和Rajewski<sup>[44]</sup>又制备了从磺乙基至磺己基衍生物化的环糊精。制备得到不同取代度的磺酸钠环糊精和磺烷基钠型环糊精由于钠盐的存在使得取代度与水溶性大小无关<sup>[143]</sup>。同样,当环糊精分子和磺酸之间是丁基连接时,取代度对包合作用也没有影响(图7)。SBE- $\beta$ -CD与HP- $\beta$ -CD一样是无定形的,可形成无定形包合物。它们具有高度水溶性(>50 mg/mL),有一定吸湿性,相对湿度





小于 60% 时, 能可逆地吸收水分。

SBE7- $\beta$ -CD 商品名为 Captisol, 已经用于临床试验。它具有良好的性质, 能制成为非胃肠道给药制剂。

吸收、分布、代谢和排泄

1. 口服给药药动学

天然环糊精口服吸收不佳。实验表明, 在大鼠的饮食中给予 5%~10% 的  $\beta$ -CD, 吸收的量为 0.1%~0.3%<sup>[144]</sup>, 如果给回肠闭合大鼠同样剂量, 吸收量达到 2%<sup>[145]</sup>。口服给予<sup>14</sup>C 标记的  $\beta$ -CD, 结果 4.8% 的标记物从尿中排出<sup>[146]</sup>。该值较高的原因是环糊精的代谢产物被吸收。少量的完整  $\beta$ -CD 是通过旁细胞途径被动吸收的<sup>[147,148]</sup>。实验表明, 只有  $\leq 2\%$  的  $\alpha$ -CD 和  $\leq 0.1\%$  的  $\gamma$ -CD 能被口服吸收<sup>[149,150]</sup>。

大部分口服吸收的  $\alpha$  和  $\beta$ -CD 通过结肠代谢。大鼠<sup>[146]</sup>和人<sup>[151]</sup>的实验都表明了它们在胃肠道上段会发生少量的水解反应。微生物实验发现, 人类结肠中大部分菌株都能降解  $\alpha$  和  $\beta$ -CD<sup>[152]</sup>, 只要接触 2~4h, 该降解活动即激活。它们在结肠滞留的时间约为 40h, 这为结肠细菌酶水解环糊精提供了充足的反应时间。同样, 大部分口服  $\gamma$ -CD 也是通过胃肠道代谢的。但是, 对  $\gamma$ -CD 进行放射性标记, 结果发现大部分代谢反应发生在胃肠道的上段<sup>[153]</sup>。

衍生化环糊精与其母体相比, 不易在胃肠道中水解。HP- $\beta$ -CD 狗的口服生物利用度为 3.3%, 大鼠实验得到的

结果略低, 而且约 60% 以原形排出<sup>[154]</sup>。以大鼠为实验动物, 口服给予<sup>14</sup>C HP- $\beta$ -CD, 3% 标记的环糊精从尿中排出、71% 从粪便排出, 另有 3% 通过呼吸排出<sup>[155]</sup>。

甲基化环糊精显示出了较好的口服吸收性。DM- $\beta$ -CD 给鼠口服后, 有 6.3%~9.6% 被吸收, M- $\beta$ -CD 实验结果为 0.5%~11.5%<sup>[153]</sup>。

2. 非胃肠道给药药动力学

静脉注射给药的环糊精很快从体循环中消除, 主要是从肾脏排出。 $\alpha$  和  $\beta$ -CD 几乎以原形排出, 而  $\gamma$ -CD 则发生一定代谢作用, 报道的代谢程度从“充分”<sup>[157]</sup>至约为 10% 或更少<sup>[153]</sup>。同样, 亲水性环糊精衍生物静脉给药后, 快速消除, 并且大部分以原形从尿中排出。尽管最初的动力学分布很快并且很难获取, 但环糊精注射后, 一般为线性两室药动力学。

表 7 给出了几种环糊精的动力学参数。各实验动物的稳态表观分布容积 ( $V_{dss}$ ) 与细胞外液体积相应, 说明了大部分环糊精几乎没有或很少进入组织。单剂量静脉注射<sup>14</sup>C HP- $\beta$ -CD, 少量参与分布的环糊精主要分布到大鼠的肾脏和肺, 而长期 (1 个月) 静脉给药, 可以在狗的肾脏和肝脏发现环糊精<sup>[154]</sup>。总血浆清除率 ( $CL_T$ ) 与计量无关, 且是肾小球滤过率的表征<sup>[158,160]</sup>。因此, 对于消除与肾功能密切相关的药物, 在肾功能不全的情况下, 通常不能观察到线性药动学。

表 7 几种环糊精的药动学参数

环糊精	实验动物	$t_{1/2,\alpha}/\text{min}$	$t_{1/2,\beta}/\text{min}$	$V_{dss}/(\text{mL/kg})$	$CL_T/[\text{mL}/(\text{h} \cdot \text{kg})]$	参考文献
$\beta$ -CD	大鼠	1.5~2.9	23.9~50.2	152~176	204~372	[158]
$\gamma$ -CD	大鼠		20			[153]
(G <sub>1</sub> - $\beta$ -CD)	兔			191	283	[159]
(G <sub>2</sub> - $\beta$ -CD)	大鼠	4.3	31.1	534.6	979.4	[127]
HP- $\beta$ -CD	大鼠		24		512	[154]
(MS=2.7)	狗		48	—	188	[154]
HP- $\beta$ -CD	人		72~108	164~240	96~126	[160]
DM- $\beta$ -CD	大鼠		22.7~42.3			[156, 161]
S- $\beta$ -CD	兔			144	32	[159]
(MS=9.6)						
S- $\beta$ -CD	兔			172	47	[159]
(MS=17.6)						
S- $\beta$ -CD	大鼠			113	52	[159]
(MS=13.3)						
SBE- $\beta$ -CD	大鼠		18	300	588	未发表
(MS=7)	狗		66	400	282	未发表
	人		84	185	114	未发表

## H

## 环糊精的安全性

## 1. 口服的安全性

关于天然环糊精口服安全性的报道最早出现于 1957 年,当时,报道错误地指出这些材料是不安全的<sup>[162]</sup>。随后,Anderson 等<sup>[163]</sup>和 Gerloczy<sup>[164]</sup>对  $\alpha$  和  $\beta$ -环糊精进行了研究,证明了在大鼠饮食中给予 1% 的  $\alpha$  或  $\beta$ -环糊精,或每天给予 2g/kg 剂量,连续给予 30~90d,不会产生毒性作用。最早的报道在接下来的实验中都没有得到重现,可能是由于早期环糊精材料纯度不合理,且可能存在有机溶剂的残留。

天然环糊精在啮鼠动物和非啮鼠动物身上都进行了实验。Szejtli 等<sup>[165]</sup>实验证明了天然环糊精给予较高的口服剂量,也不会产生毒性。即使给予最高的口服剂量,也不会造成死亡。大鼠实验得到  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -CD 的  $LD_{50}$  分别大于 12.5、18.8 和 8g/kg。

通常,口服给予  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -CD 有可能引起一些条件反射,如对包含难消化性碳水化合物饮食的适应。这种变化是种属依赖性的,大鼠比狗要敏感一些。并且,这些作用是可逆的,停止给药后自然恢复。

1.1  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -CD

对于口服  $\beta$ -CD 的安全性开展了许多研究<sup>[120,144,166,167]</sup>,如血液学、血液化学检查、尿检和尸检(宏观和微观)。这些研究发现,小鼠、大鼠和狗口服给予  $\beta$ -CD 后,没有出现任何明显的毒性反应。

虽然没有观察到宏观的病理学现象,但是通过组织的显微观察可以发现大鼠给予  $\beta$ -CD 1a 后,会发生一些与治疗作用有关的变化<sup>[167]</sup>。主要影响到的器官是肾脏和肝脏。但其对肾脏的影响还没达到毒性反应。

雄性大鼠给予含 5%、雌性大鼠给予含 2.5% 和 5.0%

$\beta$ -CD 的饮食后,发现肝脏一些细胞发生坏死。雄性大鼠给予含 2.5% 和 5.0%、雌性大鼠给予含 5%  $\beta$ -CD 的饮食后,肝门炎症细胞渗透增加。这些结果显示了  $\beta$ -CD 具有轻微的肝毒性,具体机理不明,可能是由于肝酶活性增强引起的。

给予狗含  $\beta$ -CD 的饮食 1a,未观察到与大鼠类似的肾脏和肝脏病理毒性<sup>[167]</sup>。与一般的肝毒性不同,环糊精产生的轻微肝毒性是种属依赖的。用含 5%  $\beta$ -CD 的食物喂食狗 1a,结果发现尿蛋白水平上升,从尿中排出的钙离子增加,但这些变化在大鼠实验中并未发现。

由为期 1a 的实验得到的结果表明,用于口服的  $\beta$ -CD 对于大鼠的非毒性剂量为 1.25%,而狗为 5%。考虑到这些条件下食物量的消耗,就相当于大鼠和狗分别给予约 760 和 1899 mg/kg/d 的剂量。

$\alpha$  和  $\gamma$ -CD 的口服安全性与  $\beta$ -CD 相似。对大鼠和狗<sup>[153]</sup>在饮食中给予  $\alpha$  或  $\gamma$ -CD,连续进行 90 d,得到的结果与给予难消化性碳水化合物如  $\beta$ -CD 或乳糖一致。一些器官质量会增加(脾脏和肾上腺),但这些变化是可逆的。大鼠能很好地耐受连续 13 个星期摄入进餐量 20% 的  $\gamma$ -CD [小鼠 11.4 g/(kg·d),母鼠 12.7 g/(kg·d)]<sup>[168]</sup>。

分别在饮食中加入 0、5%、10%、20%  $\alpha$ -CD 和  $\gamma$ -CD 喂食狗,其毒性反应比大鼠实验得到的结果小<sup>[153]</sup>。后续研究得出结论,日常饮食中  $\gamma$ -CD 消耗量达 20% (雄狗 7.7 g/kg,雌狗 8.3 g/kg) 时,不会发生毒性作用<sup>[169]</sup>。

## 1.2 环糊精衍生物

对于两种环糊精衍生物 SBE7- $\beta$ -CD 和 HP3- $\beta$ -CD 进行了口服安全性的研究,表 8 列出了实验的结果。实验对小鼠、大鼠和狗口服给予 HP3- $\beta$ -CD 的安全性进行了评估,实验时间分别为 2a、2a 和 1a。实验剂量高达 5000 mg/(kg·d)。除了给予高剂量 5000 mg/(kg·d) 的狗腹泻次数增加外,没有其他副作用产生。2 年期的致癌实验研究会在下面单独讨论。

SBE7- $\beta$ -CD 的口服安全性实验正在进行。

表 8 HP3- $\beta$ -CD 和 SBE7- $\beta$ -CD 口服安全性研究结果

实验动物	给药持续时间/d	剂量/[mg/(kg·d)]
SBE7- $\beta$ -CD (Captisol)		
大鼠	1	600
HP3- $\beta$ -CD (Encapsin)		
小鼠	1	5000
	90	500, 2000, 5000
	90	500, 2000, 5000
	730	500, 2000, 5000
大鼠	1	5000
	14	5000
	365	500, 2000, 5000
	730	500, 2000, 5000
狗	1	5000
	365	500, 2000, 5000

2. 非胃肠道给药的安全性

辅料安全性评价主要是围绕其对全身的安全性展开的，因为各种给药途径最终都会进入全身循环。开展了大量天然环糊精的实验，结果表明，它们通过非胃肠道给药的毒性主要表现在肾脏毒性和细胞毒性（溶血和组织刺激性）。这些毒性成为制备能改善天然环糊精安全性的新型环糊精衍生物的驱动力。

2.1  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -CD

肾毒性研究：非胃肠道给药时，天然环糊精会对肾脏产生毒副作用。 $\alpha$ 和 $\beta$ -CD的肾毒性标志着近曲小管细胞发生了一系列变化<sup>[170]</sup>。毒作用的最初表现是顶端气泡增加，这是极高浓度下渗透性试剂排出的典型适应性应答。这一反应会在中止给予环糊精后消失。但是，还有一些非典型性的渗透性试剂对细胞的作用是不可逆的。肾近曲小管的上皮细胞内可以观察到针状微晶。微晶的出现和数量与环糊精的剂量有关。晶体的内容物还没有确定下来，但是可能是析出的母体环糊精以及环糊精与胆固醇<sup>[171]</sup>或脂蛋白<sup>[172]</sup>形成的包合物。逐渐发现近曲小管其他细胞器也发生了比较大的变化：线粒体膨胀并且开始变形；高尔基体与光滑内质网一起受到影响；基底外侧细胞间隙膜发生破裂。这些变化都是不可逆的，随着毒性环境发展，肾功能逐渐降低甚至会导致死亡。

$\gamma$ -CD非胃肠道给药肾毒性低于 $\alpha$ 和 $\beta$ -CD。皮下和静脉注射给予小鼠4000mg/kg和大鼠2400mg/kg的剂量，未发现产生毒性反应<sup>[173]</sup>。Schmid<sup>[174]</sup>报道了小鼠静脉注射 $\gamma$ -CD的LD<sub>50</sub>为10 000mg/kg，而大鼠高于3750mg/kg。对于急性静脉注射， $\gamma$ -CD的安全性要高于 $\alpha$ 和 $\beta$ -CD，后两者大鼠的LD<sub>50</sub>分别为1000mg/kg和788mg/kg<sup>[170,174]</sup>。Antlspenger<sup>[153]</sup>和Donaubauer等<sup>[175]</sup>对大鼠静脉注射 $\gamma$ -CD 30和90d的安全性进行了评价。30d实验得到的无不良反应的剂量为200mg/kg，而90d实验得到的剂量为120mg/kg。

细胞毒性研究：所有天然环糊精非胃肠道给药都会发生体内溶血。人红细胞体内实验表明环糊精对细胞的损坏作用： $\beta$ -CD> $\alpha$ -CD> $\gamma$ -CD<sup>[176]</sup>。这种细胞破坏作用还会发生在人皮肤纤维细胞和肠细胞<sup>[177]</sup>、P388鼠白血病细胞<sup>[178]</sup>、大肠杆菌细胞<sup>[179]</sup>和人角膜上皮细胞<sup>[180]</sup>。机理研究提出环糊精从细胞膜提取胆固醇（ $\beta$ -CD和 $\gamma$ -CD）或磷脂（ $\alpha$ -CD）会使细胞产生小孔从而导致泄漏并最终造成细胞溶化。

这些体外细胞毒性研究并不能表征体内细胞毒性，但是提供了一种依据环糊精溶化细胞膜的能力来进行分类的方法。事实上，当使用全血代替红细胞进行溶血实验时，由于疏水血清成分的存在，使得环糊精的细胞毒性减小了10倍。因此，只有当环糊精浓度较高时，才会在体内发生细胞膜破坏作用。

2.2 环糊精衍生物

肾毒性研究：环糊精衍生物肾脏安全性的差别很大。

肌肉注射甲基化 $\beta$ -环糊精50 mg/(kg·d)，12d后就观察到肾脏毒性<sup>[181]</sup>。甲基化环糊精肾毒性大小为：TM- $\beta$ -CD>M- $\beta$ -CD>DM- $\beta$ -CD> $\beta$ -CD。据报道，DM- $\beta$ -CD的LD<sub>50</sub>为220mg/kg<sup>[159]</sup>。然而，对大鼠静脉注射糖基化/双糖基化环糊精[G<sub>2</sub>- $\beta$ -CD/(G<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- $\beta$ -CD] 200mg/kg 14d，没有显示出肾脏毒性<sup>[182]</sup>。进一步还可以观察到眼睛、鼻子、嘴巴和四肢发生潮红。

对羟丙基和磺丁基醚化环糊精的安全性进行了详细的研究，结果发现中等剂量条件下，它们很少或没有肾毒性。表9对得到的静脉注射安全性研究进行了概括总结。从结果可以看出 $\beta$ -CD非胃肠道给药会引起适应性应答，但不会进一步发生不可逆的机体损伤。

表9 HP3- $\beta$ -CD和SBE7- $\beta$ -CD静脉注射安全性研究结果<sup>[198]</sup>

实验动物	给药持续时间/d	剂量/[mg/(kg·d)]
SBE7- $\beta$ -CD (Captisol)		
小鼠	1	2000
大鼠	1	600
	1	2000
	14	160, 240, 600, 1500, 15 000
	30	40, 80, 160
	30	160, 240, 320
	30	300, 1000, 3000
	180	200, 320, 600
狗	1	240
	14	160, 240, 750
	30	30, 60, 120
	30	100, 200, 300
	30	300, 1000, 3000
	180	150, 300, 600
HP3- $\beta$ -CD (Encapsin)		
小鼠	1	5000, 7000, 10 000, 14 000, 20 000
大鼠	1	2000, 4000
	4	1600, 3200
	10	400
	90	25, 50, 100, 400
	90	50, 100, 400
狗	1	5000
	4	3200
	90	25, 50, 100, 400
		50, 100, 400

90d静脉注射(2HP) 3- $\beta$ -CD 400mg/kg，结果发现产生了一定的毒性：体重下降、全血和血清参数改变、肺和肝的单核吞噬细胞活性增加，以及脾脏红髓增生增加<sup>[183]</sup>。

连续6个月每天静脉注射SBE7- $\beta$ -CD，剂量高达



600mg/kg, 结果并未得到上述(2HP)  $\beta$ -CD 产生的反应, 证明这是一种全身安全的环糊精。

**细胞毒性研究:** 与肾毒性相同, 不同环糊精衍生物显示出差别很大的溶血行为。双甲基化环糊精的溶血性比母体  $\beta$ -CD 还要大。图 10 显示了发生溶血的细胞比例与环糊精浓度的关系。DM- $\beta$ -CD 浓度低于 0.1% 时, 溶血反应开始, 而  $\beta$ -CD 浓度为 DM- $\beta$ -CD 初始反应浓度的 4~5 倍时, 才开始发生溶血反应。当 DM- $\beta$ -CD 作为皮肤<sup>[184]</sup> 和鼻黏膜<sup>[185]</sup> 的渗透促进剂时, 可以观察到一样的反应。

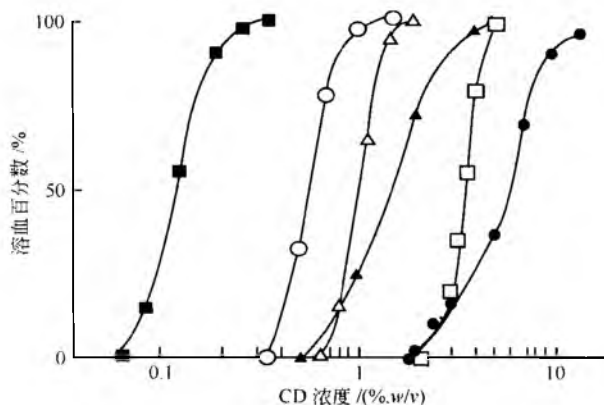


图 10 37℃、pH 7.4 等渗磷酸缓冲液中反应 30 min, 环糊精衍生物对人红细胞的溶血作用<sup>[135]</sup>。△  $\alpha$ -CD; ○  $\beta$ -CD; □  $\gamma$ -CD; ■ DM- $\beta$ -CD; ▲ HP- $\beta$ -CD; ● HE- $\beta$ -CD

相比之下, 羟丙基和磺丁基醚化环糊精的溶血性比  $\beta$ -CD 小得多。图 11 显示了  $\beta$ -CD 与两种 (2HP)- $\beta$ -CD 和三种 SBE- $\beta$ -CD 的溶血性<sup>[186]</sup>。溶血性与衍生化环糊精取代度有关, 取代度越高, 溶血反应越小。两种羟丙基化环糊精 (2HP)  $\beta$ -CD 和 (2HP) 7- $\beta$ -CD 溶血行为相当, 但都小于  $\beta$ -CD。同样, 磺丁基醚化环糊精的溶血性也小于  $\beta$ -CD, 但其取代度对溶血行为影响较大。当取代度从 1 增加至 4 再增加至 7 时, 溶血性急剧下降, SBE7- $\beta$ -CD 没有溶血性。

### 3. 致癌性和致突变性

通过细菌和哺乳动物基因突变以及染色体畸变实验来考察环糊精与遗传物质的相互作用。天然环糊精在这些实验中没有显示出诱变行为<sup>[153,165]</sup>, 且天然环糊精口服和非胃肠道给药实验中没有出现肿瘤生长。

同样对几种环糊精衍生物进行致癌和致突变研究。HP- $\beta$ -CD<sup>[187,188]</sup> 和 SBE7- $\beta$ -CD<sup>[189]</sup> 在致突变实验中呈阴性反应。但是, 在 2 年期致癌性研究中发现, HP- $\beta$ -CD 能造成大鼠胰腺外分泌腺泡细胞增生并有囊肿形成<sup>[190]</sup>。大鼠实验中, 生成囊肿的结果与致突变分析的结果相矛盾, 且母体环糊精也没有发现致癌性。在小鼠和狗的短期研究中, 也没有发现有胰腺副作用产生。

大鼠胰腺增生可能是由于高浓度 HP- $\beta$ -CD 使得胆盐从粪便中消除增加, 从而间接地刺激了胆囊收缩素 (CCK)

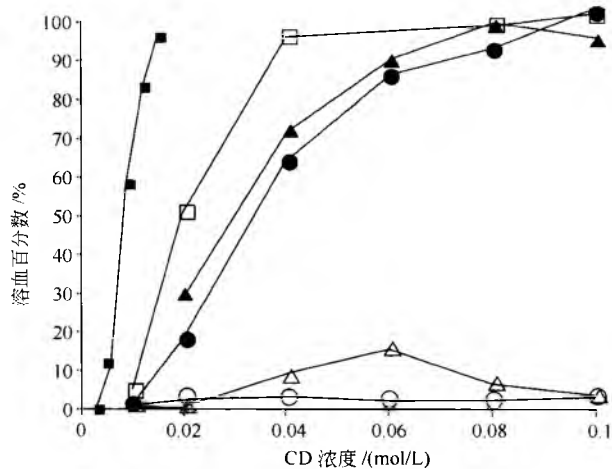


图 11 37℃、pH 7.4 等渗磷酸缓冲液中反应 5 min, 环糊精衍生物对人红细胞的溶血作用<sup>[186]</sup>。■  $\beta$ -CD; □ SBE1- $\beta$ -CD; ● (2HP) $\beta$ - $\beta$ -CD; ▲ (2HP)7- $\beta$ - $\beta$ -CD; △ SBE4- $\beta$ - $\beta$ -CD; ○ SBE7- $\beta$ - $\beta$ -CD

的生成。CCK 是一种分裂素, 可以使腺泡细胞增生增加。这种反应的敏感性与种属有关<sup>[191]</sup>, 其中大鼠是最敏感的, 而对狗则没有影响。HP- $\beta$ -CD 致癌性研究使用的浓度可能对营养平衡产生较大影响。FDA 对致癌性研究做了规定, 安全性实验需采用最高浓度来确定最大耐受剂量, 但同时也需把营养不足的可能性降到最低<sup>[192]</sup>。给予 5g/(kg·d) 剂量的 HP- $\beta$ -CD 产生的胰腺赘物有可能是营养缺失的结果, 而不是 HP- $\beta$ -CD 本身产生的致癌作用。

### 4. 生殖安全性

环糊精口服安全性的实验涉及了雄性动物和雌性动物, 结果发现性别的差异对生物体毒副作用也有一定影响。天然环糊精对性别差异没有影响, 其对生殖的影响很小<sup>[166]</sup>。有报道关于  $\gamma$ -CD 胚胎毒性和致畸性的研究<sup>[193]</sup>。一些为期 90d 的实验中, 对大鼠和兔子口服给药, 结果发现对母体健康和生殖都没有影响<sup>[153]</sup>。

Barrow 等对生殖和遗传安全性开展了广泛研究, 考察了  $\beta$ -CD 对三代生物体的影响<sup>[194]</sup>。实验过程中发现唯一的副作用与剂量有关, 即小狗从出生到断奶这段时间增长的体重会减少, 但这一结果也仅在产后 7~14d 给予 5%  $\beta$ -CD 喂养的实验中得到。但这种断奶前的生长迟缓并不是持久的, 一旦正常哺乳, 小狗会回到正常体重。此实验条件下, 口服  $\beta$ -CD 未观察到不良反应的剂量水平 (NOAEL) 为饮食中含 1.25% 的  $\beta$ -CD。

以大鼠和兔子为实验动物, 对 HP3- $\beta$ -CD 和 SBE7- $\beta$ -CD 的生殖安全性进行了研究。表 10 列出了实验数据。怀孕大鼠 HP- $\beta$ -CD 口服剂量高达 5000mg/kg 时, 没有产生母体毒性、胚胎毒性和致畸性。怀孕兔子口服给予 HP- $\beta$ -CD 1000mg/kg 产生了轻微的母体和胚胎毒性, 但未致畸。

表 10 SBE7-β-CD 和 HP3-β-CD 生殖安全性研究<sup>[198]</sup>

种属	给药途径	剂量/[mg/(kg·d)]
SBE7-β-CD (Captisol)		
母体毒性		
大鼠	静脉注射	300, 1000, 3000
兔	静脉注射	250, 600, 1500
I：生育力和早期胚胎发育		
大鼠	静脉注射	100, 400, 1500
II：胚胎毒性和致畸性		
大鼠	静脉注射	100, 600, 3000
兔	静脉注射	100, 400, 1500
III：分娩前/后发育		
大鼠	静脉注射	100, 600, 3000
HP3-β-CD (Encapsin)		
I：生育力和早期胚胎发育		
大鼠	静脉注射	50, 100, 400
	口服	500, 2000, 5000
II：胚胎毒性和致畸性		
大鼠	静脉注射	50, 100, 400
	口服	500, 2000, 5000
兔	口服	50, 100, 400
	口服	250, 500, 1000
III：分娩前/后发育		
大鼠	静脉注射	50, 100, 400
	静脉注射	50, 100, 400
	口服	500, 2000, 5000

从大鼠怀孕 18 天开始至小鼠哺乳 3 周，每天静脉注射 HP-β-CD 400mg/kg，未产生副作用。但从怀孕 16 天至哺乳 3 周，静脉注射给予 HP-β-CD，低剂量组（50mg/kg）和高剂量组（400mg/kg）幼鼠的存活率显著低于溶剂对照组。

怀孕大鼠静脉注射 SBE7-β-CD，剂量分别为 100mg/kg、600mg/kg 和 3000mg/kg，未发现上述作用。SBE7-β-CD 静脉给药不会对生育力和早期胚胎发育产生影响，也不会导致畸胎的产生。唯一的影响是减少母体体重的增加，以及在高剂量下食物消耗量的减少。

法规管理

1. 新型辅料管理方法

环糊精不是“标准”非活性成分，由于未明确的法规管理使得它们用于制剂受到了限制。通常，一种新型辅料（如环糊精）批准需要对其进行评估。实际上，并不需要专门对辅料进行审批。在美国，FDA 只会在涉及药物制剂时对辅料进行考查。FDA 只对最终的药物产品进行审批。因此，每个药物产品提出申请时，都会对其辅料进行考查。新型辅料的资料依据其生产商归档至药物主文件-4<sup>[196]</sup>。当有临床研究申请（IND）或是新药申请（NDA）时，对于使用的辅料就会参考这类数据。

可以提交申请将辅料作为一种食品添加剂并把它放在“公认为安全的”（GRAS）目录中。GRAS 目录（美国联邦法规 21 182.1-184.1）只接受食品添加剂的申请，并且公认为在法规规定的条件下使用是安全的。GRAS 目录中的辅料通常用于口服制剂。一旦某种材料用于食品，那么它就被认为只要剂量在食品添加剂消耗量内，就适合于口服制剂。但并不一定适合非口服途径给药。

在日本，情况也和美国类似，在新药申请时对新型辅料的资料进行评估。辅料和药物活性成分同时接受考察，但最后获得批准的是药物产品。当某种辅料在上市产品中被广泛使用，有关部门会对其资料进行研究，并考虑将其收录到日本药局方（JP）中。日本药局方对用于药物制剂的物质的标准做了强制性规定。在日本药局方中，建立了一些“先例”，当新药产品中使用了标有这个符号的材料，只要在规定的条件下使用，就不需要递交有关这种材料的资料了。

但是，在日本对“新”的定义十分严格。即使是标有“先例”的材料，只要使用了新的、较高的剂量或是新的给药途径，就会以新型辅料的要求来对产品进行审批。对于已经获批的食品添加剂和化妆品成分要求同样如此。只要是第一次被用于某种剂型就以新型辅料的要求来考察。

2. 现行环糊精管理状态

在日本，天然环糊精归到天然淀粉类，已经被日本卫生部批准用于食品，而在药剂学上，α 和 β-CD 已经收录到日本药用辅料目录（JPE）中<sup>[196]</sup>。现在，有 9 种含环糊精的药物制剂产品已经在日本上市，但是环糊精类的用途还不足以使它们被收入到“先例”中。

在美国，有 2 种含有环糊精的药物产品已经获批上市 [一种含 α-CD，一种含 (2HP)-β-CD]，至少一种正处于新药申请阶段（含 SBE7-β-CD）。此外，药物主文件收录了 β-CD、γ-CD 以及环糊精衍生物 (2HP)-β-CD 和 SBE7-β-CD。进行临床研究申请（IND）或是新药申请（NDA）时，可以参考这些药物主文件。β-CD 作为食品添加剂的申请正在审查中，而一篇关于 β-CD 的专著已经收录在了（美国）国



家药品集 19 卷  $\beta$ -环糊精项下<sup>[197]</sup>。美国药典委员会正考虑将环糊精衍生物收入药典。

一个专家小组在 1997 年时总结说,  $\beta$ -CD 若以 2% 加入到食品中作为香料的载体和保护剂时, 公认为是安全的 (GRA)。这些食品包括口香糖、布丁、添加香料的咖啡和茶、小点心、焙烤食品、饮料和谷物类早餐。FDA 正在考虑将这些产品中所含的  $\beta$ -CD 列入 GRA 行列。世界卫生组织和联合国粮食及农业组织的食品添加剂专家委员会对  $\beta$ -CD 进行了考察, 建立了日常可接受摄取量为 0~5mg/kg。欧盟食品科学委员会将  $\beta$ -CD 日常摄取量定为 5mg/kg·d。FDA 在 2000 年, 将  $\gamma$ -CD 也列入 GRA 行列。

### 参 考 文 献

- Villiers, A. Sur La Fermentation De La Fécule Par L'action Du Ferment Butyrique. C R Hebd. Seances Acad. Sci. 1891, 112, 536—538.
- Schardinger, F. Thermophile Bakterien Aus Verschiedenen Nahrungsmitteln Und Milch Und Die Gebildeten Produkte, Wenn Diese Bakterien in Nahrlosungen Kultiviert Werden, Die Kohlenhydrate Enthalen. Z. Unters. Nahr. Genussm. 1903, 6, 865.
- French, D.; Rundle, R. E. The Molecular Weights of the Schardinger Alpha and Beta Dextrins. J. Am. Chem. Soc. 1942, 64, 1651—1653.
- Freudenberger, K.; Cramer, F. Die Konstitution Der Schardinger Dextrine Alpha, Beta, Und Gamma. Z. Naturforsch. 1948, 3b, 464.
- Proceedings of 10th International Symposium on Cyclodextrins Ann Arbor MI May 2000, Schmid, G., Eds.; MI-RA Digital Publishing; St. Louis, MO, 2001.
- Thompson, D. O. Cyclodextrins-Enabling Excipients; their Present and Future Use in Pharmaceuticals. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1997, 14 (1), 1—104.
- Frömming, K.-H.; Szejtli, J. Cyclodextrins in Pharmacy. Kluwer Academic Publishers; Dordrecht, The Netherlands, 1994; 224.
- Uekama, K.; Otagiri, M. Cyclodextrins in Drug Carrier Systems. CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1987, 3 (1), 1—40.
- Higuchi, T.; Connors, K. A. Phase-Solubility Techniques. Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, Reilly, C. N., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.; New York, 1965; 4, 117—212.
- Merino, C.; Junquera, E.; Jimenez-Barbero, J.; Aicart, E. Effect of the Presence of  $\beta$ -Cyclodextrin on the Solution Behavior of Procaine Hydrochloride. Spectroscopic and Thermodynamic Studies. Langmuir 2000, 16 (4), 1557—1565.
- Maupas, B.; Letellier, S.; Guyon, F. Determination of the Formation Constant for the Inclusion Complex of Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin with Anticoagulant Drugs Warfarin and 8-Chlorowarfarin in Aqueous Solution. J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem. 1996, 23 (4), 259—267.
- Sadlej-Sosnowska, N. Fluorometric Determination of Association Constants of Three Estrogens with Cyclodextrins. J. Fluoresc. 1997, 7 (3), 195—200.
- Escandar, G. M. Spectrofluorimetric Determination of Piroxicam in the Presence and Absence of  $\beta$ -Cyclodextrin. Analyst 1999, 124 (4), 587—591.
- Nishijo, J.; Ushiroda, Y. Interaction of 2-Naphthalene-sulfonate With  $\beta$ -Cyclodextrin; Studies with Calorimetry and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Chem. Pharm. Bull. 1998, 46 (11), 1790—1796.
- Li, S.; Purdy, W. C. Circular Dichroism, Ultraviolet, and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Studies of the Chiral Recognition Mechanism of  $\beta$ -Cyclodextrin. Anal. Chem. 1992, 64 (13), 1405—1412.
- Patonay, G.; Warner, I. M. Investigation of Induced Circular Dichroism of Benzo (a) pyrene Cyclodextrin Complexes. J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem. 1991, 11 (4), 313—322.
- DePonti, R.; Torricelli, C.; Motta, A.; Crivellente, M. Use of a Polarographic Method, a UV Method, and the Phase-Solubility Technique to Determine the Stability Constant in Aqueous Solution of a  $\beta$ -Cyclodextrin Complex with a New Immunomodulating Agent. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1991, 37 (2), 106—109.
- Koenigbauer, M. J. Pharmaceutical Applications of Microcalorimetry. Pharm. Res. 1994, 11 (6), 777—783.
- Mwakibete, H.; Cristantino, R.; Bloor, D. M.; Wyn-Jones, E.; Holzwarth, J. F. Reliability of the Experimental Methods to Determine Equilibrium Constants for Surfactant/ $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes. Langmuir 1995, 11 (1), 57—60.
- Dharmawardana, U. R.; Christian, S. D.; Tucker, E. E.; Taylor, R. W.; Scamehorn, J. F. A Surface Tension Method for Determining Binding Constants for Cyclodextrin Inclusion Complexes of Ionic Surfactants. Langmuir 1993, 9 (9), 2258—2263.
- Ono, N.; Hirayama, F.; Arima, H.; Uekama, K. Determination of Stability Constant of  $\beta$ -Cyclodextrin Complexes Using the Membrane Permeation Technique and the Permeation Behavior of Drug-Competing Agent- $\beta$ -Cyclodextrin Ternary Systems. Eur. J. Pharm. Sci. 1999, 8 (2), 133—139.
- Bartak, P.; Bednar, P.; Kubacek, L.; Stransky, Z. Advanced Statistical Evaluation of Complex Formation Con-

- stant from Electrophoretic Data. *Anal. Chim. Acta* 2000, 407 (1/2), 327—336.
23. Neubert, R. H. H.; Schwarz, M. A.; Mrestani, Y.; Platzner, M.; Raith, K. Affinity Capillary Electrophoresis in Pharmaceutics. *Pharm. Res.* 1999, 16 (11), 1663—1673.
  24. Suzuki, M.; Ito, K.; Fushimi, C.; Kondo, T. Application of Freezing Point Depression to Drug Interaction Studies. I. a Study of 1 : 1 Plus 1 : 2 Complexes Between Barbiturate and  $\alpha$ -Cyclodextrin Using the Freezing Point Depression Method. *Chem. Pharm. Bull.* 1993, 41 (8), 1444—1447.
  25. Thuaud, N.; Seville, B.; Deratani, A.; Lelievre, G. Determination by High-Performance Liquid Chromatography of the Binding Properties of Charged  $\beta$ -Cyclodextrin Derivatives with Drugs. *J. Chromatogr.* 1990, 503 (2), 453—458.
  26. Hamai, S.; Handa, M. Paper Chromatographic Study on the Inclusion Complexes of Cyclodextrins and Methyl Orange. *Anal. Lett.* 1999, 32 (5), 1037—1047.
  27. Wang, M.; Ueda, H.; Nagai, T. Simple Prediction of Stability Constants for Inclusion Complexes of  $\beta$ -Cyclodextrin with Various Drug Molecules Using  $\beta$ -Cyclodextrin Bonded Phases (Cyclobond I Column). *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16 (4), 571—579.
  28. Cserhati, T.; Forgacs, E. Charge-Transfer Chromatographic Study of the Complex Formation of Some Steroidal Drugs with Carboxymethyl  $\gamma$ -Cyclodextrin. *Anal. Biochem.* 1997, 246 (2), 205—210.
  29. Lederer, M.; Leipzig-Pagani, E. A Simple Alternative Determination of the Formation Constant for the Inclusion Complex Between Rutin and  $\beta$ -Cyclodextrin. *Anal. Chim. Acta* 1996, 329 (3), 311—314.
  30. Kraus, C.; Mehnert, W.; Froemming, K. H. Interactions of  $\beta$ -Cyclodextrin With Solutol HS 15 and their Influence on Diazepam Solubilization. *PZ Wiss.* 1991, 4 (1), 11—15.
  31. Lin, S. Y.; Kao, Y. H.; Yang, J. C. Grinding Effect on Some Pharmaceutical Properties of Drugs by Adding  $\beta$ -Cyclodextrin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1988, 14 (1), 99—118.
  32. Abdel-Rahman, S. I.; El-Sayed, A. M. Interaction of Some Benzothiadiazine Diuretics with  $\beta$ -Cyclodextrin. *Acta Pharm. Hung.* 1990, 60 (2/3), 69—75.
  33. Bekers, O.; Beijnen, J. H.; Otagiri, M.; Bult, A.; Underberg, W. J. M. Inclusion Complexation of Doxorubicin and Daunorubicin with Cyclodextrins. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1990, 8 (12), 671—674.
  34. Husain, N.; Ndou, T. T.; Munoz de la Pena, A.; Warner, I. M. Complexation of Doxorubicin with  $\beta$ - and  $\gamma$ -Cyclodextrins. *Appl. Spectrosc.* 1992, 46 (4), 652—658.
  35. Imai, T.; Irie, T.; Otagiri, M.; Uekama, K.; Yamasaki, M. Comparative Study on Inclusion Complexations of Antiinflammatory Drug Flurbiprofen with  $\beta$ -Cyclodextrin and Methylated Beta-Cyclodextrins. *J. Inclusion Phenom.* 1984, 2 (3/4), 597—604.
  36. Abdel-Rahman, A. A.; Saleh, S. I.; Nakai, Y.; Aboutaleb, A. E.; Ahmed, M. O. Investigation of the Interaction of Bromazepam with Cyclodextrins in Solutions and in Ground Mixtures. *J. Pharm. Belg.* 1994, 49 (1), 23—32.
  37. Ahmed, M. O.; Nakai, Y.; Aboutaleb, A. E. S.; Yamamoto, K.; Abdel Rahman, A. A. Z.; Saleh, S. I. Complex Formation of Nitrazepam in Coprecipitating and in Co-grinding with Methylated Beta-Cyclodextrins. *Chem. Pharm. Bull.* 1990, 38 (12), 2423—2427.
  38. Müller, B. W.; Brauns, U. Solubilization of Drugs by Modified Beta-Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* 1985, 26 (1/2), 77—88.
  39. Müller, B. W.; Brauns, U. Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrins Derivatives; Influence of Average Degree of Substitution on Complexing Ability and Surface Activity. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75 (6), 571—572.
  40. Yoshida, A.; Yamamoto, M.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. Some Pharmaceutical Properties of 3-Hydroxypropyl- and 2, 3-Dihydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrins and their Solubilizing and Stabilizing Abilities. *Chem. Pharm. Bull.* 1989, 37 (4), 1059—1063.
  41. Rao, C. T.; Pitha, J.; Lindberg, B.; Lindberg, J. Distribution of Substituents In O- (2-Hydroxypropyl) Derivatives of Cyclomalto-Oligosaccharides (Cyclodextrins); Influence of Increasing Substitution, of the Base Used in the Preparation, and of Macrocyclic Size. *Carbohydr. Res.* 1992, 223, 99—107.
  42. Kano, K.; Zhou, B.; Sakaguchi, M.; Matsumoto, H.; Hashimoto, S. Effects of Aeration, Freezing and Thawing on Self-Aggregation of Naphthalene in Aqueous  $\beta$ -Cyclodextrin Solutions. *Sci. Eng. Rev. Doshisha Univ.* 1985, 25 (4), 253—259.
  43. Menger, F. M.; Williams, D. Y. Synthesis and Properties of a Surfactant-Cyclodextrin Conjugate. *Tetrahedron Lett.* 1986, 27 (23), 2579—2582.
  44. Stella, V.; Rajewski, R. A. Derivatives of Cyclodextrins Exhibiting Enhanced Aqueous Solubility and the Use Thereof. US Patent 5, 134, 127, 1992.
  45. Gerloczy, A.; Hoshino, T.; Pitha, J. Safety of Oral Cyclodextrins; Effects of (Hydroxypropyl) Cyclodextrins,

- Cyclodextrin Sulfates and Cationic Cyclodextrins on Steroid Balance in Rats. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83 (2), 193—196.
46. Okimoto, K.; Rajewski, R. A.; Jona, J. A.; Stella, V. J. The Interaction of Charged and Uncharged Drugs with a Neutral (HP- $\beta$ -Cyclodextrin) and Anionically Charged (SBE7- $\beta$ -Cyclodextrin)  $\beta$ -Cyclodextrin. *Pharm. Res.* 1996, 13 (2), 256—264.
47. Badawy, S. I. F.; Marshall, A. L.; Ghorab, M. M.; Adeyeye, C. M. A Study of the Complexation Between Danazol and Hydrophilic Cyclodextrins Derivatives. *Drug Devel. Indust. Pharm.* 1996, 22 (9/10), 959—966.
48. Rajewski, R. A. Ph. D. Dissertation. Development and Evaluation of the Usefulness and Parenteral Safety of Modified Cyclodextrins; University of Kansas: Lawrence, KS USA, 1991.
49. Johnson, M. D.; Hoesterey, B. L.; Anderson, B. D. Solubilization of a Tripeptide HIV Protease Inhibitor Using a Combination of Ionization and Complexation with Chemically Modified Cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83 (8), 1142—1146.
50. Rajewski, R. A.; Traiger, G.; Bresnahan, J.; Jaberabansari, P.; Stella, V. J.; Thompson, D. O. Preliminary Safety Evaluation of Parenterally Administered Sulfoalkyl Ether  $\beta$ -Cyclodextrin Derivatives. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84 (8), 927—932.
51. Otero-Espinar, F. J.; Anguiano-Igea, S.; Garcia-Gonzalez, N.; Vila-Jato, J. L.; Blanco-Mendez, J. Interaction of Naproxen with  $\beta$ -Cyclodextrin in Solution and in the Solid State. *Int. J. Pharm.* 1992, 79 (2/3), 149—157.
52. Hoshino, T.; Uekama, K.; Pitha, J. Increase in Temperature Enhances Solubility of Drugs in Aqueous Solutions of Hydroxypropyl Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* 1993, 98 (1/3), 239—242.
53. Menard, F. A.; Dedhiya, M. G.; Rhodes, C. T. Physicochemical Aspects of the Complexation of Some Drugs with Cyclodextrins. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16 (1), 91—113.
54. Pitha, J.; Hoshino, T. Effects of Ethanol on Formation of Inclusion Complexes of Hydroxypropyl Cyclodextrins with Testosterone or with Methyl Orange. *Int. J. Pharm.* 1992, 80 (2/3), 243—251.
55. Reer, O.; Müller, B. W. The Influence of Cosolvents and Surfactants on the Complexation of Dexamethasone with Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin Investigated with a Simplex Lattice Design. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1993, 39 (3), 105—111.
56. Mulski, M. J.; Connors, K. A. Solvent Effects on Chemical Processes. 9. Energetic Contributions to the Complexation of 4-Nitroaniline with Alpha-Cyclodextrin in Water and in Binary Aqueous-Organic Solvents. *Supramol. Chem.* 1995, 4 (4), 271—278.
57. Loftsson, T.; Masson, M.; Sigurjonsdottir, J. F. Methods to Enhance the Complexation Efficiency of Cyclodextrins. *Stp Pharma Sciences* 1999, 9 (3), 237—242.
58. Redenti, E.; Szente, L.; Szejtli, J. Drug/Cyclodextrin/Hydroxy Acid Multicomponent Systems. Properties and Pharmaceutical Applications. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (1), 1—8.
59. Turro, N. J.; Okubo, T.; Chung, C. J. Analysis of Static and Dynamic Host-Guest Associations of Detergents with Cyclodextrins via Photoluminescence Methods. *J. Am. Chem. Soc.* 1982, 104 (7), 1789—1794.
60. Hashimoto, S.; Thomas, J. K. Fluorescence Study of Pyrene and Naphthalene in Cyclodextrin-Amphiphile Complex Systems. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107 (16), 4655—4662.
61. Stella, V. J.; Rao, V. M.; Zannou, E. A.; Zia, V. Mechanisms of Drug Release from Cyclodextrin Complexes. *Adv. Drug Del. Rev.* 1999, 36 (1), 3—16.
62. Szejtli, J. Medicinal Applications of Cyclodextrins. *Med. Res. Rev.* 1994, 14 (3), 353—386.
63. Hirai, S. Formulation Studies of Cefotiam Hexetil Hydrochloride; Effect of  $\alpha$ -Cyclodextrin as Dissolution Enhancer. *Proceedings of 7th International Symposium on Cyclodextrins*; Osa, T., Ed.; Komiyama Printing Co., Ltd.; Tokyo, 1994; 39—44.
64. Jarvinen, T.; Järvinen, K.; Schwarting, N.; Stella, V. J.  $\beta$ -Cyclodextrin Derivatives, SBE4- $\beta$ -Cyclodextrin and HP- $\beta$ -Cyclodextrin, Increase the Oral Bioavailability of Cinnarizine in Beagle Dogs. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84 (3), 295—299.
65. Soliman, O. A.; Kimura, K.; Hirayama, F.; Uekama, K.; El-Sabbagh, H. M.; El-Gawad, A. E.; Hashim, F. M. Amorphous Spironolactone-Hydroxypropylated Cyclodextrin Complexes with Superior Dissolution and Oral Bioavailability. *Int. J. Pharm.* 1997, 149 (1), 73—83.
66. Saket, M. Improvement of Solubility and Dissolution Rate of Meclizine Hydrochloride Utilizing Cyclodextrins and Non-Ionic Surfactant Solutions Containing Cosolvents and Additives. *Acta Technologiae et Legis Medicamenti* 1997, 8 (1), 33—48.
67. Nagarsenker, M. S.; Tantry, J. S.; Shenai, H. Influence of Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin on the Dissolution of Ketoprofen and Irritation to Gastric Mucosa after Oral Administration in Rats. *Pharm. Sci.* 1997, 3 (9),



- 443—445.
68. Moyano, J. R.; Arias, M. J.; Gines, J. M.; Perez, J. I.; Rabasco, A. M. Dissolution Behavior of Oxazepam in Presence of Cyclodextrins: Evaluation of Oxazepam-DIMEB Binary System. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23 (4), 379—385.
  69. Badawy, S. I. F.; Ghorab, M. M.; Adeyeye, C. Study of the Complexation Between Danazol and Hydrophilic Cyclodextrin Derivatives. *Pharm. Res.* 1995, 12 (9), S204.
  70. Savolainen, J.; Jarvinen, K.; Matilainen, L.; Jarvinen, T. Improved Dissolution and Bioavailability of Phenytoin by Sulfobutylether- $\beta$ -Cyclodextrin (Sbe) (7m)- $\beta$ -Cd and Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin (Hp- $\beta$ -Cd) Complexation. *Int. J. Pharm.* 1998, 165 (1), 69—78.
  71. Kimura, K.; Hirayama, F.; Arima, H.; Uekama, K. Effects of Aging on Crystallization, Dissolution and Absorption Characteristics of Amorphous Tolbutamide-2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin Complex. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48 (5), 646—650.
  72. Vora, J.; Boroujerdi, M. Enhanced Aqueous Solubility of Phenolic Antioxidants Using Modified Beta-Cyclodextrins. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1995, 21 (4), 495—502.
  73. Lehner, S. J.; Müller, B. W.; Seydel, J. K. Effect of Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin on the Antimicrobial Action of Preservatives. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46 (3), 186—191.
  74. Loftsson, T.; Stefansdottir, O.; Frioriksdottir, H.; Guomundsson, O. Interactions Between Preservatives and 2-Hydroxypropyl  $\beta$ -Cyclodextrin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1992, 18 (13), 1477—1484.
  75. Nunuz-Delgado, E.; Sanchez-Ferrer, A.; Garcia-Carmena, F. Cyclodextrins As Secondary Antioxidants: Synergism With Ascorbic Acid. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45 (8), 2830—2835.
  76. Otero Espinar, F. J.; Anguiano Igea, S.; Blanco Mendez, J.; Vila Jato, J. L. Reduction in the Ulcerogenicity of Naproxen by Complexation with  $\beta$ -Cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 1991, 70 (1/2), 35—41.
  77. Park, J. H.; Kim, J. H.; Kim, J. I.; Kim, S. J.; Seo, S. H.; Lee, K. Comparison of Diclofenac Sodium and Diclofenac Sodium- $\beta$ -Cyclodextrin Complexation on Gastric Mucosal Injury in Rats. *Yakche Hakhoechi* 1997, 27 (1), 11—14.
  78. Santucci, L.; Fiorucci, S.; Chiucchiu, S.; Sicilia, A.; Bufalino, L.; Morelli, A. Placebo-Controlled Comparison of Piroxicam- $\beta$ -Cyclodextrin, Piroxicam, and Indomethacin on Gastric Potential Difference and Mucosal Injury in Humans. *Dig. Dis. Sci.* 1992, 37 (12), 1825—1832.
  79. Loftsson, T.; Jarvinen, T. Cyclodextrins in Ophthalmic Drug Delivery. *Adv. Drug Del. Rev.* 1999, 36 (1), 59—79.
  80. Doenicke, A.; Roizen, M. F.; Nebauer, A. E.; Kugler, A.; Hoerneck, R.; Beger-Hintzen, H. A Comparison of Two Formulations for Etomidate, 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin (HPCyclodextrin) and Propylene Glycol. *Anesth. Analg. (NY)* 1994, 79 (5), 933—939.
  81. Stella, V. J.; Lee, H. K.; Thompson, D. O. The Effect of SBE4- $\beta$ -Cyclodextrin on I. m. Prednisolone Pharmacokinetics and Tissue Damage in Rabbits: Comparison to a Co-Solvent Solution and a Water-Soluble Prodrug. *Int. J. Pharm.* 1995, 120 (2), 197—204.
  82. Howard, D.; Morris, R. M.; Rinkema, L.; Morrow, T. E.; Laska, D. A. Moderation of Untoward Side Effects during In Vivo and In Vitro Screening of Potential I. Vz. Preparations. *Min. 6th Int. Symp. Cyclodextrins*; Hedges, A. R., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1992; 474—477.
  83. Weiszfeiler, V.; Szejtli, J. Bitterness Reduction with  $\beta$ -Cyclodextrin. *Proceedings of 4th International Symposium of Cyclodextrins*; Huber, O.; Szejtli, J., Eds.; Kluwer Academic Publishers; Dordrecht The Netherlands, 1988; 359—366.
  84. Funasaki, N.; Kawaguchi, R.; Ishikawa, S.; Hada, S.; Neya, S.; Katsu, T. Quantitative Estimation of the Bitter Taste Intensity of Oxyphenonium Bromide Reduced by Cyclodextrins from Electromotive Force Measurements. *Anal. Chem.* 1999, 71 (9), 1733—1736.
  85. Funasaki, N.; Uemura, Y.; Hada, S.; Neya, S. Reduction of the Bitter Taste Intensity of Propantheline Bromide by Cyclodextrins as Predicted by Surface Tension Measurements. *J. Phys. Chem.* 1996, 100 (40), 16298—16301.
  86. Uekama, K.; Oh, K.; Otagiri, M.; Seo, H.; Tsuruoka, M. Improvement of Some Pharmaceutical Properties of Clofibrate by Cyclodextrin Complexation. *Pharm. Acta Helv.* 1983, 58 (12), 338—342.
  87. Loftsson, T. Effects of Cyclodextrins on the Chemical Stability of Drugs in Aqueous Solutions. *Drug Stab.* 1995, 1 (1), 22—33.
  88. Loftsson, T.; Brewster, M. E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85 (10), 1017—1025.
  89. Ueda, H.; Ou, D.; Endo, T.; Nagase, H.; Nagai, T. Evaluation of a Sulfobutyl Ether  $\beta$ -Cyclodextrin as a Solubilizing/Stabilizing Agent for Several Drugs. *Symposium on Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins*;

- Lawrence, KS, June 29-July 2, 1997.
90. Ma, D. Q.; Rajewski, R. A.; Vander Velde, D.; Stella, V. J. Comparative Effects of (Sbe) (7m)  $\beta$ -Cd and Hp- $\beta$ -Cd on the Stability of Two Anti-Neoplastic Agents, Melphalan and Carmustine. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (2), 275—287.
91. Schlenk, H.; Sand, D. M.; Tillotson, J. A. Stabilization of Autoxidizable Materials by Means of Inclusion. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 3587—3590.
92. Hirayama, F.; Kurihara, M.; Uekama, K. Improving the Aqueous Stability of Prostaglandin E2 and Prostaglandin A2 by Inclusion Complexation With Methylated  $\beta$ -Cyclodextrins. *Chem. Pharm. Bull.* 1984, 32 (10), 4237—4240.
93. Jarho, P.; Vander Velde, D.; Stella, V. J. Cyclodextrin-Catalyzed Deacetylation of Spironolactone is pH And Cyclodextrin Dependent. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (2), 241—249.
94. Oguchi, T.; Yonemochi, E.; Yamamoto, K.; Nakai, Y. Freeze-Drying of Drug-Additive Binary Systems. II. Relationship Between Decarboxylation Behavior and Molecular States of *p*-Aminosalicylic Acid. *Chem. Pharm. Bull.* 1989, 37 (11), 3088—3091.
95. Mielcarek, J. Photochemical Stability of the Inclusion Complexes of Nicardipine with  $\alpha$ -,  $\gamma$ -Cyclodextrin, Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin, and Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin in the Solid State and in Solution. *Pharmazie* 1996, 51 (7), 477—479.
96. Ammar, H. O.; El-Nahhas, S. A. Improvement of Some Pharmaceutical Properties of Drugs by Cyclodextrin Complexation. 2. Colchicine. *Pharmazie* 1995, 50 (4), 269—272.
97. Yamamoto, M.; Hirayama, F.; Uekama, K. Improvement of Stability and Dissolution of Prostaglandin E1 by Maltosyl Beta-Cyclodextrin in Lyophilized Formulation. *Chem. Pharm. Bull.* 1992, 40 (3), 747—751.
98. Cwiertnia, B.; Hladon, T.; Stobiecki, M. Stability of Diclofenac Sodium in the Inclusion Complex with  $\beta$ -Cyclodextrin in the Solid State. *J. Pharm. Pharmacol.* 1999, 51 (11), 1213—1218.
99. Lee, H. J.; Kim, S. U.; Seo, S. H. Pharmaceutical Studies on the Drug (III) . Enhancement of Dissolution and Stability of Sulfamethoxazole by Beta-Cyclodextrin Complexation. *Yakche Hakhoechi* 1988, 18 (4), 181—186.
100. Sigurjonsdottir, J. F.; Loftsson, T.; Masson, M. Influence of Cyclodextrins on the Stability of the Peptide Salmon Calcitonin in Aqueous Solution. *Int. J. Pharm.* 1999, 186 (2), 205—213.
101. Sah, H. Stabilization of Proteins Against Methylene Chloride Water Interface-Induced Denaturation and Aggregation. *J. Controlled Release* 1999, 58 (2), 143—151.
102. Karuppiiah, N.; Sharma, A. Cyclodextrins As Protein Folding Aids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 211 (1), 60—66.
103. Tokihiro, K.; Irie, T.; Uekama, K. Varying Effects of Cyclodextrin Derivatives on Aggregation and Thermal Behavior of Insulin in Aqueous Solution. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45 (3), 525—531.
104. Katakam, M.; Banga, A. K. Aggregation of Proteins and Its Prevention by Carbohydrate Excipients: Albumins and  $\gamma$ -Globulin. *J. Pharm. Pharmacol.* 1995, 47 (2), 103—107.
105. Cooper, A.; Lovatt, M.; Nutley, M. A. Energetics of Protein-Cyclodextrin Interactions. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* 1996, 25 (1—3), 85—88.
106. Sharma, A. Cyclodextrin-Assisted Protein Folding. Symposium on Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins; Lawrence, KS, June 29-July 2, 1997.
107. Utsuki, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. Different Photodimerization Behavior of Tranilast in  $\alpha$ -,  $\beta$ - and Gamma-Cyclodextrin Complexes: Cavity-Size and Stoichiometry Dependence. *J. Chem. Soc., Perkin Trans* 1993, 2 (1), 109—114.
108. Lin, G.; Xu, S. A New Method of Encapsulating Volatile Oils in Chinese Medicinal Herbs with Beta-Cyclodextrin. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 1992, 17 (5), 283—285.
109. Qi, Z. H.; Hedges, A. R. Use of Cyclodextrins for Flavors. *ACS Symp. Ser., Flavor Technology* 1995, 610, 231—243.
110. Bhandari, B. R.; D'arcy, B. R.; Bich, L. L. T. Lemon Oil to  $\beta$ -Cyclodextrin Ratio Effect on the Inclusion Efficiency of  $\beta$ -Cyclodextrin and the Retention of Oil Volatiles in the Complex. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46 (4), 1494—1499.
111. Uekama, K.; Oh, K.; Irie, T.; Otagiri, M.; Nishimiya, Y.; Nara, T. Stabilization of Isosorbide 5-Mononitrate in Solid State by  $\beta$ -Cyclodextrin Complexation. *Int. J. Pharm.* 1985, 25 (3), 339—346.
112. Umemura, M.; Ueda, H.; Tomono, K.; Nagai, T. Effect of Diethyl Beta-Cyclodextrin on the Release of Nitroglycerin from Formulations. *Drug Des. Delivery* 1990, 6 (4), 297—310.
113. Szente, L.; Apostol, I.; Szejtli, J. Suppositories Containing Beta-Cyclodextrin Complexes. Part 1: Stability

- Studies. *Pharmazie* 1984, 39 (10), 697—699.
114. Saenger, W.; Betzel, C.; Hingerty, B.; Brown, G. M. Flip-Flop Hydrogen Bridging Bonds in Beta-Cyclodextrin-A General Principle in Polysaccharides. *Angew. Chem.* 1983, 95 (11), 883—884.
  115. Jozwiakowski, M. J.; Connors, K. A. Aqueous Solubility Behavior of Three Cyclodextrins. *Carb. Res.* 1985, 143, 51—59.
  116. Coleman, A. W.; Nicolis, I.; Keller, N.; Dalbiez, J. P. Aggregation of Cyclodextrins: An Explanation of the Abnormal Solubility of Beta-Cyclodextrin. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* 1992, 13 (2), 139—143.
  117. Pedersen, M. Effect of Hydrotropic Substances on the Complexation of Clotrimazole with Beta-Cyclodextrin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (4), 439—448.
  118. Coleman, A. W.; Nicolis, I. Inorganic Salt Modulation of the Aqueous Solubility of Beta-Cyclodextrin. *Supramol. Chem.* 1993, 2 (2/3), 93—97.
  119. Loftsson, T.; Frioriksdottir, H. The Effect of Water-Soluble Polymers on the Aqueous Solubility and Complexing Abilities of  $\beta$ -Cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 1998, 163 (1/2), 115—121.
  120. Szejtli, J. Cyclodextrins and their Inclusion Complexes. *Akadémiai Kiadó*: Budapest Hungary, 1982; 296.
  121. Schonberger, B. P.; Jansen, A. C. A.; Janssen, L. H. M. The Acid Hydrolysis of Cyclodextrins and Linear Oligosaccharides: A Comparative Study. *Proceedings of 4th International Symposium on Cyclodextrins*; Huber, O.; Szejtli, J., Eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands, 1988; 61—63.
  122. Szejtli, J.; Budai, Z. Acid Hydrolysis of Beta-Cyclodextrin. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 1976, 91 (1), 73—80.
  123. Al-Rawi, A. M. The Susceptibility of Gamma-Cyclodextrin (Schardinger Dextrin) to Ionizing Radiation. *Food Preserv. Irradiat., Proceedings of the International Symposium*; IAEA: Vienna Austria, 1978; 487—500.
  124. Nakai, Y.; Yamamoto, K.; Terada, K.; Kajiyama, A.; Sasaki, I. Properties of Crystal Water of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and Gamma; -Cyclodextrin. *Chem. Pharm. Bull.* 1986, 34 (5), 2178—2182.
  125. Lindner, K.; Saenger, W. Topography of Cyclodextrin Complexes. Part XVII. Crystal and Molecular Structure of Cycloheptaamylose Dodecahydrate. *Carbohydr. Res.* 1982, 99 (2), 103—115.
  126. Fujiwara, T.; Yamazaki, M.; Tomizu, Y.; Tokuoka, R.; Tomita, K.; Matsuo, T.; Suga, H.; Saenger, W. The Crystal Structure of a New Form of Beta-Cyclodextrin Water Inclusion Compound and Thermal Properties of Beta-Cyclodextrin Inclusion Complexes. *Nippon Kagaku Kaishi* 1983, 2, 181—187.
  127. Yamamoto, M.; Aritomi, H.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. Biopharmaceutical Evaluation of Maltosyl Beta-Cyclodextrin as a Parenteral Drug Carrier. *S. T. P. Pharma Sci.* 1991, 1 (6), 397—402.
  128. Yamamoto, M.; Yoshida, A.; Hirayama, F.; Uekama, K. Some Physicochemical Properties of Branched Beta-Cyclodextrins and their Inclusion Characteristics. *Int. J. Pharm.* 1989, 49 (2), 163—171.
  129. Ou, D.; Ueda, H.; Nagase, H.; Endo, T.; Nagai, T. Some Pharmaceutical Properties of 2, 3, 6-Partially Methylated  $\beta$ -Cyclodextrin and its Solubilizing and Stabilizing Abilities. *DrugDev. Ind. Pharm.* 1994, 20 (12), 2005—2016.
  130. Tsuchiyama Y.; Sato M.; Yagi Y.; Ishikura, T. Partially Methylated Cyclodextrins and Process for the Producing the Same. *US Patent* 4, 746, 734, 1988.
  131. Harata K. Macrocylic Conformation of Methylated Cyclodextrins Minutes of the 5th International Symposium on Cyclodextrins, Duchene, D. Editions de Sante'; Paris, 1990; 77—81.
  132. Irie, T.; Fukunaga, K.; Yoshida, A.; Uekama, K.; Fales, H. M.; Pitha, J. Amorphous Water-Soluble Cyclodextrin Derivatives; 2-Hydroxyethyl, 3-Hydroxypropyl, 2-Hydroxyisobutyl, and Carboxamidomethyl Derivatives of Beta-Cyclodextrin. *Pharm. Res.* 1988, 5 (11), 713—717.
  133. Pitha, J.; Milecki, J.; Fales, H.; Pannell, L.; Uekama, K. Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin: Preparation and Characterization; Effects on Solubility of Drugs. *Int. J. Pharm.* 1986, 29 (1), 73—82.
  134. Pitha, J.; Rao, C. T.; Lindberg, B.; Seffers, P. Distribution of Ssubstituents in 2-Hydroxypropyl Ethers of Cyclomaltoheptaose. *Carbohydr. Res.* 1990, 200, 429—435.
  135. Yoshida, A.; Arima, H.; Uekama, K.; Pitha, J. Pharmaceutical Evaluation of Hydroxyalkyl Ethers of Beta-Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* 1988, 46 (3), 217—222.
  136. Brandt, L.; Felcht, U. H. Water-Soluble Mixed Ether of Beta-Cyclodextrin. *EP Patent* 146, 841, 1985.
  137. Brauns, U.; Mueller, B. W. W. Beta-Cyclodextrins Inclusion Compounds for Pharmaceuticals. *DE Patent* 3, 346, 123, 1985.
  138. Muller, B. W. W. Preparation of Gamma-Cyclodextrins

- Ethers and their Use as Complexants for Chemicals and Pharmaceuticals. EP Patent 197, 571, 1986.
139. Pitha, J. Preparation of Inclusion Compounds of Cyclodextrins Ethers with Lipophilic Drugs. US Patent 4, 727, 064, 1988.
140. Lindberg, B.; Lindberg, J.; Pitha, J.; Rao, C. T.; Harata, K. Synthesis of Some 2-O- (2-Hydroxyalkyl) and 2-O- (2, 3-Dihydroxyalkyl) Derivatives of Cyclomaltoheptaose. Carbohydr. Res. 1991, 22, 113—119.
141. Parmeter, S. M.; Allen, E. E., Jr.; Hull, G. A. Cyclodextrins With Anionic Properties. US Patent 3, 426, 011 1969.
142. Lammers, J. N. J. J.; Koole, J. L.; Hurkmans, J. Properties of Cyclodextrins. VI. Water Soluble Cyclodextrins Derivatives. Preparation and Analysis. Staerke 1971, 23 (5), 167—171.
143. Luna, E.; Tait, R. J.; Thompson, D. O.; Stella, V. J.; Stobaugh, J. F. Evaluation of the Utility of Capillary Electrophoresis (CE) for the Analysis of Modified Cyclodextrins Mixtures Proceedings of 7th International Symposium on Cyclodextrins. Osa, T., Komiyama Printing Co. Ltd.; Tokyo 1994; 198—201.
144. Olivier, P.; Verwaerde, F.; Hedges, A. R. Subchronic Toxicity of Orally Administered Beta-Cyclodextrins in Rats. J. Am. Coll. Toxicol. 1991, 10 (4), 407—419.
145. Koizumi, K.; Kubota, Y.; Okada, Y.; Utamura, T. Microanalyses of Beta-Cyclodextrins in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography. J. Chromatog. 1985, 341 (1), 31—41.
146. Gerloczy, A.; Fonagy, A.; Keresztes, P.; Perlaky, L.; Szejtli, J. Absorption, Distribution, Excretion and Metabolism of Orally Administered  $^{14}\text{C}$ - $\beta$ -Cyclodextrin in Rat. Arzneim.-Forsch. 1985, 35 (7), 1042—1047.
147. Szabo, P.; Ferenczy, T.; Serfozo, J.; Szejtli, J.; Liptak, A. Absorption and Elimination of Cyclodextrin Derivatives by Rabbits and Rats Proceedings of 1st International Symposium on Cyclodextrins, Reidel; Dordrecht, The Netherlands 1982; 115—122.
148. Irie, T.; Tsunenari, Y.; Uekama, K.; Pitha, J. Effect of Bile on the Intestinal Absorption of Alpha-Cyclodextrins in Rats. Int. J. Pharm. 1988, 43 (1/2), 41—44.
149. De Bie, A.; Van Ommen, B.; Bar, A. Disposition of [ $^{14}\text{C}$ ]Gamma-Cyclodextrin in Germ-Free and Conventional Rats. Regul. Toxicol. Pharmacol. 1998, 27 (2), 150—158.
150. Szathmary, S. C.; Seiler, K. U.; Luhmann, I.; Huss, H. J. Pharmacokinetic Behavior and Absolute Bioavailability of Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin after Increasing Doses in Volunteers Minutes of the 5th International Symposium Cyclodextrin. Duchene, D., Editions de Santé; Paris, 1990; 535—540.
151. Flourie, B.; Molis, C.; Achour, L.; Dupas, H.; Hatat, C.; Rambaud, J. C. Fate of Beta-Cyclodextrin in the Human Intestine. J. Nutr. 1993, 123 (4), 676—680.
152. Antenucci, R. N.; Palmer, J. K. Enzymic Degradation of  $\alpha$  And  $\beta$ -Cyclodextrins by Bacteroides of the Human Colon. J. Agric. Food Chem. 1984, 32 (6), 1316—1321.
153. Antlisperger, G. New Aspects in Cyclodextrin Toxicology Minutes 6th International Symposium on Cyclodextrins Hedges, A. R., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1992; 277—283.
154. Monbaliu, J.; Van Beijsterveldt, L.; Meuldermans, W.; Szathmary, S.; Heykants, J. Disposition of Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin in Experimental Animals. Minutes 5<sup>th</sup> International Symposium on Cyclodextrins; Duchene, D., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1990; 514—517.
155. Gerloczy, A.; Antal, S.; Szatmari, I.; Muller-Horvath, R.; Szejtli, J. Absorption, Distribution and Excretion of Carbon-14 Labeled Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin in Rats Following Oral Administration. Minutes 5<sup>th</sup> International Symposium on Cyclodextrins; Duchene, D., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1990; 507—513.
156. Szatmari, I.; Vargay, Z. Pharmacokinetics of Dimethyl- $\beta$ -Cyclodextrin in Rats. Proceedings of the 4th International Symposium on Cyclodextrins; Huber, O., Szejtli, J., Eds.; Kluwer Academic Publishers; Dordrecht Netherlands, 1988; 407—413.
157. Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. Pharmaceutical Uses of Cyclodextrin Derivatives. High Performance Biomaterials, A Comprehensive Guide to Medical and Pharmaceutical Applications; Szycher, M., Ed.; Technomic; Lancaster, PA, 1991; 789—806.
158. Frijlink, H. W.; Visser, J.; Hefting, N. R.; Oosting, R.; Meijer, D. K. F.; Lerk, C. F. The Pharmacokinetics of Beta-Cyclodextrins and Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrins in the Rat. Pharm. Res. 1990, 7 (12), 1248—1252.
159. Irie, T.; Uekama, K. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. III. Toxicological Issues and Safety Evaluation. J. Pharm. Sci. 1997, 86 (2), 147—162.
160. Mesens, J. L.; Putteman, P.; Verheyen, P. Pharmaceutical Applications of 2-Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin. New Trends in Cyclodextrins and Derivatives; Duchène, D., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1991;

- 369—407.
161. Yamamoto, M.; Aritomi, H.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. Pharmaceutical Evaluation of Branched Beta-Cyclodextrins As Parenteral Drug Carriers. Minutes 5<sup>th</sup> International Symposium on Cyclodextrins; Duchene, D., Ed.; Editions de Santé: Paris, 1990; 541—544.
  162. French, D. The Schardinger Dextrins. *Adv. Carbohydr. Chem.* 1957, 12, 189—260.
  163. Anderson, G. H.; Robbins, F. M.; Domingues, F. J.; Moores, R. G.; Long, C. L. The Utilization of Schardinger Dextrins by the Rat. *Toxicol. Appl. Pharm.* 1963, 5, 257.
  164. Szejtli, J. Chemistry and Preparation of Cyclodextrins. Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes; Akadémiai Kiadó: Budapest Hungary, 1982; 41.
  165. Szejtli, J.; Sebestyen, G. Resorption, Metabolism and Toxicity Studies on the Peroral Application of Beta-Cyclodextrin. *Starch/Stärke* 1979, 31 (11), 385—389.
  166. Gergely, V.; Sebestyen, G.; Virag, S. Toxicity Studies of  $\beta$ -Cyclodextrin. Proceedings of 1st International Symposium on Cyclodextrins; Szejtli, J., Ed.; Kluwer Academic Publishers; Dordrecht, The Netherlands, 1982; 109—113.
  167. Bellringer, M. E.; Smith, T. G.; Read, R.; Gopinath, C. Olivier, P. H.  $\beta$ -Cyclodextrin: 52-Week Toxicity Studies in the Rat and Dog. *Food Chem. Toxicol.* 1995, 33 (5), 367—376.
  168. Lina, B. A. R.; Bar, A. Subchronic Oral Toxicity Studies With Gamma-Cyclodextrin in Rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1998, 27 (2), 178—188.
  169. Til, H. P.; Bar, A. Subchronic (13-Week) Oral Toxicity Study of Gamma-Cyclodextrin in Dogs. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1998, 27 (2), 159—165.
  170. Frank, D. W.; Gray, J. E.; Weaver, R. N. Cyclodextrin Nephrosis in the Rat. *Am. J. Pathol.* 1976, 83 (2), 367—382.
  171. Frijlink, H. W.; Eissens, A. C.; Hefting, N. R.; Poelstra, K.; Lerk, C. F.; Meijer, D. K. F. The Effect of Parenterally Administered Cyclodextrins on Cholesterol Levels in the Rat. *Pharm. Res.* 1991, 8 (1), 9—16.
  172. Sharma, A.; Janis, L. S. Lipoprotein-Cyclodextrins Interaction. *Clin. Chim. Acta* 1991, 199 (2), 129—137.
  173. Matsuda, K.; Mera, Y.; Segawa, Y.; Uchida, I.; Yokomine, A.; Takagi, K. Acute Toxicity Study of Gamma-Cyclodextrin ( $\gamma$ -Cyclodextrin) in Mice and Rats. *Oyo Yakuri* 1983, 26 (2), 287—291.
  174. Schmid, G. Preparation and Application of Gamma-Cyclodextrin. *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*; Duchêne, D., Ed.; Editions de Santé: Paris, 1991; 27—54.
  175. Donaubaue, H. H.; Fuchs, H.; Langer, K. H.; Bar, A. Subchronic Intravenous Toxicity Studies with Gamma-Cyclodextrin in Rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1998, 27 (2), 189—198.
  176. Irie, T.; Otagiri, M.; Sunada, M.; Uekama, K.; Ohtani, Y.; Yamada, Y.; Sugiyama, Y. Cyclodextrin-Induced Hemolysis and Shape Changes of Human Erythrocytes in Vitro. *J. Pharmacobio-Dyn.* 1982, 5 (9), 741—744.
  177. Garay, R. P.; Feray, J. C.; Fanous, K.; Nazaret, C.; Villegas, M. J.; Letavernier, J. F. A New Approach for the in Vitro Evaluation of Cyclodextrin Effects on Cellular Membranes of Human Cells. Minutes 7th International Symposium on Cyclodextrins; Tetsuo, O., Ed.; Komiyama Printing Co., Ltd.; Tokyo, 1994; 373—376.
  178. Leroy-Lechat, F.; Wouessidjewe, D.; Andreux, J. P.; Puisieux, F.; Duchene, D. Evaluation of the Cytotoxicity of Cyclodextrins and Hydroxypropylated Derivatives. *Int. J. Pharm.* 1994, 101 (1/2), 97—103.
  179. Bar, R.; Ulitzur, S. Bacterial Toxicity of Cyclodextrins; Luminous Escherichia Coli as a Model. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1994, 41 (5), 574—577.
  180. Saarinen-Savolainen, P.; Jarvinen, T.; Araki-Sasaki, K.; Watanabe, H.; Urtti, A. Evaluation of Cytotoxicity of Various Ophthalmic Drugs, Eye Drop Excipients and Cyclodextrins in an Immortalized Human Corneal Epithelial Cell Line. *Pharm. Res.* 1998, 15 (8), 1275—1280.
  181. Serfozo, J.; Szabo, P.; Ferenczy, T.; Toth-Jakab, A. Renal Effects of Parenterally Administered Methylated Cyclodextrins on Rabbits. Proceedings of 1st International Symposium on Cyclodextrins. Szejtli, J. D., Ed.; Reidel Publishing Co.; Dordrecht, The Netherlands; 1982; 123—132.
  182. Anderson, W. R.; Calderwood-Mays, M.; Brewster, M. E.; Bodor, N. The Effects of Chemically-Modified Cyclodextrins on the Renal Histology of the Sprague-Dawley Rat. Minutes 6th International Symposium on Cyclodextrins; Hedges, A. R., Ed.; Editions de Santé: Paris, 1992, 288—291.
  183. Encapsin, HPB; R81216 Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin—A Real Solution for Real Drug Delivery Problems. Product Literature from Janssen Biotech N. V. Drug Delivery Systems. Lammerdries 55, B-2250 Olen Belgium, 1992.
  184. Vollmer, U.; Müller, B. W.; Peeters, J.; Mesens, J.;

- Wilffert, B.; Peters, T. A Study of the Percutaneous Absorption-Enhancing Effects of Cyclodextrin Derivatives in Rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46 (1), 19—22.
185. Park, G.-B.; Seo, B.; Ann, H.-J.; Rho, H.-G.; Onn, Y.-S.; Lee, K.-P. Enhanced Nasal Absorption of Ketoconazole by Inclusion With Cyclodextrin. *Yakche Hakhoechi.* 1994, 24 (2), 95—104.
186. Captisol®. Sulfobutyl Ether  $\beta$ -Cyclodextrin; Product Literature from CyDex, Inc.; 12980 Metcalf Ave., Suite 470, Overland Park KS 66213, 2000, CDinfo@cydexinc.com.
187. Coussement, W.; Van Cauteren, H.; Vandenberghe, J.; Vanparys, P.; Teuns, G.; Lampo, A.; Marsboom, R. Toxicological Profile of Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin (HP Beta-Cyclodextrins) in Laboratory Animals. Minutes 5th International Symposium on Cyclodextrins; Duchene, D., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1990; 522—524.
188. Brewster, M. E.; Bodor, N. Parenteral Safety and Uses of 2-Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrins. Minutes 5th International Symposium on Cyclodextrins; Duchene, D., Ed.; Editions de Santé; Paris, 1990; 525—534.
189. Ladola, A.; Abbott, D.; George, C.; Guzzie, P.; Nahas, K.; Provost, J.-P. Safety Studies With Captisol. Symposium on Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins, Lawrence, KS, June-July 29—2 1997.
190. Van Cauleren, H.; Lampo, A.; Lammens, L.; Benze, H.; Coussement, W.; Vandenberghe, J. Monitoring Pharmacodynamic Effects in Toxicology Studies. Excerpts From a Workshop on The Use of Pharmacology Studies in Drug Safety Assessment—Present Situation and Future Perspectives; Sundwall, A.; Johansson, B.; Lindbom, L.-O.; Lindgren, E.; Sjöberg, P., Eds.; 1994; 101—106.
191. Sundaram, S.; Dayan, A. D. Effects of a Cholecystokinin Receptor Antagonist on Rat Exocrine Pancreatic Response to Raw Soya Flour. *Human Exp. Toxicol.* 1991, 10, 179—182.
192. Expert Working Group (Safety) of ICH. FDA Guidance for Industry ICH-S1C: Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals, Drug Information Branch, HFD-210, CDER, 5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857 accessed Sept. 22, 1998, <http://www.fda.gov/CDER/guidance/index.htm>.
193. Waalkens-Berendsen, D. H.; Smits-Van Prooije, A. E.; Bar, A. Embryotoxicity and Teratogenicity Study with Gamma-Cyclodextrin in Rabbits. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1998, 27 (2), 172—177.
194. Barrow, P. C.; Olivier, P.; Marzin, D. The Reproductive and Developmental Toxicity Profile of Beta-Cyclodextrin in Rodents. *Rep. Toxicol.* 1995, 9 (4), 389—398.
195. Möller, H.; Oeser, W. H. Drug Master Files, Global Harmonization of Quality Standards, Wissenschaftlich Verlagsgesellschaft MbH; Stuttgart, 1992; 213.
196. The Japanese Pharmaceutical Excipients Council. Japanese Pharmaceutical Excipients 1993. Yakuji Nippo, Ltd.; Tokyo, 1994; 415.
197. Ed. United States Pharmacopeia 24/National Formulary 19, United States Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville, MD, 1999; 24/19, 2569.
198. Janssen Research Foundation, Itraconazole Oral Solution, NDA 020657, Food and Drug Administration, Freedom of Information Staff (HFI-35), 5600 Fishers Lane, Rockville MD 20857, <http://www.fda.gov/>.

(陶芸莺 译)

# 环氧乙烷灭菌法

Terezinha de Jesus Andreoli Pinto

Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

H

## 引言

环氧乙烷 (EtO) 的生物活性最初由 Cotton 和 Roark<sup>[1]</sup> 观察到, 当 EtO 的浓度为 3.2~32.0mg/L 时, 他们发现其有杀虫剂的作用。1937 年, Cross 和 Dixon<sup>[2]</sup> 以大量实验事实为依据, 申请了将 EtO 作为一种灭菌方法的专利。

EtO 最初商业应用于香料灭菌和 (或) 熏蒸消毒<sup>[3~7]</sup>。Phillips 和 Kaye<sup>[8]</sup> 进行了一系列 EtO 的应用研究, 集中于不耐热材料的灭菌。

虽然这之后 EtO 在工业上的应用涉及药品、化妆品、包装材料和生物来源的原材料<sup>[9]</sup> 等方面, 但主要应用于医疗器械, 如静脉注射装置、心肺和麻醉器械等的灭菌处理。在医院, 虽然存在争议, EtO 还是在很大程度上增加了一次性医疗器械的重复利用率。

## 环氧乙烷的性质

EtO (也称二亚甲基氧化物) 是一种无色气体, 低温下冷凝为流动液体, 易溶于水、乙醇、乙醚和大多数有机溶剂, 蒸气易燃易爆。EtO 的物理性质见表 1。

表 1 环氧乙烷的物理化学性质

相对分子质量	44.05
相对密度 (H <sub>2</sub> O=1), 68°/39.2 °F (20°/4°C)	0.8700
相对密度 (空气=1)	1.49
蒸气压, 68 °F (20°C)	22psi (151.7kPa abs)
水中溶解度	完全溶解
以体积计的挥发百分比	100.0
蒸发速率 (乙酸丁酯=1)	高
沸点, 1atm	50.9 °F (10.5°C)
冰点, 1atm	-170.7 °F (-112.6°C)
外观、气味和状态	常温常压下为无色气体或液体。在约 500ppm 时变成乙醚气味气体, 无残留。大于 PEL 时检测不到气味。在氮气压力下以液体形式运输和储存。

EtO 的活性很高, 在工业上是多种化合物的主要化学中间体。在大多数反应中, EtO 的三元环被打开, 产生一

系列链长增加、水溶性增大的聚乙二醇衍生物。如今乙烯的构型已经成为化学键成键和分子结构的研究对象。EtO 对金属一般无腐蚀性, 与物体接触后不残留任何气味。EtO 蒸气 (非液体状态) 在空气中的浓度达到 3% 以上时就具有可燃性和爆炸性, 正是由于这个原因, 在灭菌剂中, EtO 通常与惰性气体混合以消除其可燃性。

EtO 也用于医疗行业以外的其他行业。实际上, EtO 只有一小部分是作为灭菌剂使用的。在环境保护署 (EPA) 里, 它是以杀虫剂进行注册的。在食品工业方面, 它作为熏蒸剂广泛使用。此外, 它也作为一种化学药品应用于去污剂、塑料、纤维、薄膜、抗冻剂和其他产品的生产<sup>[10]</sup>。

## 环氧乙烷的灭菌机理

EtO 的活性依赖于其烷基化反应, 类似于许多其他消毒剂、防腐剂和灭菌剂, 如甲醛、β-丙内酯、溴甲烷和乙撑亚胺等<sup>[9]</sup>。该反应发生在细菌细胞中复杂的酶系、蛋白质和核苷酸的某些基团中<sup>[11]</sup>。反应后微生物细胞所必需的这些化合物就会失效。此外, 我们希望 EtO 的作用会随着反应的扩展而变化: 抑制、诱变或毒性。

对于 EtO 浓度和过程温度的影响已有广泛研究<sup>[8,12,13]</sup>。Ernst 和 Shull<sup>[13]</sup> 最先证明当 EtO 浓度较高时, 枯草杆菌变种黑色芽孢的致死率动力学为零级。随着 EtO 浓度的降低, 动力学变为一級。而 EtO 在不同温度下的灭菌曲线图表明了需要的 EtO 浓度和每 10°C 反应速率的重叠情况。

另外, 研究表明细菌与大气湿度之间保持平衡, 即使干燥到极低湿度, 仍会保留一些自由水——这种细菌会比那些干燥的细菌更容易被杀死。通常认为有机化学反应是通过形成一种活化复合物的方式发生的, 因此, 我们可以推断水影响了该活化过程。如果生物有机体被离子化, 水一定是以反应介质或溶剂的形式存在, 从而有机化合物在 EtO 的作用下进入过渡态<sup>[14]</sup>。此外, 如果以非极性溶剂如二噁烷和氯仿替代水, EtO 就没有灭菌活性。

在这个灭菌过程中, 水还有另外的作用——在细菌表面增加灭菌剂浓度。我们可以想象细菌存在于这样的 EtO 环境中: 所有的灭菌剂都呈蒸气状态存在, 而且反应速率取决于 EtO 分子与细菌活性部位的碰撞次数, 以及碰撞分子被细菌吸收、迁移进入活性部位的数量。这种碰撞反应相当慢, 然而在含有水蒸气和 EtO 的大气中, 水以液相的形式与细菌平衡, 并溶解 EtO, 浓缩有机体上的 EtO 使之成为溶液, 因而增加了细菌的致死率<sup>[14]</sup>。

## H

## 技术概况

## 1. 职业工程学因素

对 EtO 的危险性评价要涉及其化学组成、特性和反应性。尽管 EtO 在体内随时会转变为乙二醇、乙烯氯乙醇, 并且其生物半衰期约为 10min, 但仍分布于大多数器官中。细胞、动物和流行病学研究表明, EtO 能够产生神经药理作用、神经毒作用、复制作用以及致畸致突变作用<sup>[15~17]</sup>。

职业安全与健康管理局 (OSHA) 负责管理美国厂内 EtO 的职业暴露。在现行的多数其他国家认可的 OSHA 标准下, EtO 的容许暴露水平 (PEL) 为每 8h 1ppm (1.8mg/m<sup>3</sup>) (时间-权重平均值)。然而, 为了保证员工尽可能少地接触 EtO, 建议 EtO 的作用浓度为 0.5ppm。

OSHA 已经建立了 EtO 的限度为平均 15min 5ppm (9.0mg/m<sup>3</sup>)。除了这些规范外, 对工人保护的高度重视及潜在的责任已经明显提高了企业对 EtO 控制措施的关注度。

在灭菌厂房中可能会使工人暴露于 EtO 的主要来源一般可分为四大类<sup>[18]</sup>:

(1) 与灭菌设备操作有关的暴露: 灭菌器 (门密封垫圈的泄漏、管道泄漏、阀门与接口的泄漏、通风管道的泄漏和污染空气的再循环等)、真空泵 (封口泄漏、排放到废液装置的密封剂的脱气)、灭菌气体的储存与传输系统, 如罐、圆桶或鼓状物 (阀门和接口的泄漏、气路的泄漏、更换时的泄漏)。

(2) 与灭菌产品脱气有关的暴露: 卸载、迁移、储存和芽孢样品的弃除。

(3) 与维护操作有关的暴露: 日常例行保养和修理、预防性维修。

(4) 与紧急情况有关的暴露: 大量泄漏、大量溢出以及设备功能失常。

为了消除或至少把所有步骤中的问题降低到最低程度, 需要研究、建立和引进工程学解决方案<sup>[19]</sup>。

## 1.1 通风

总体区域通风系统的设计是根据 EtO 排到特定区域的量进行的。有必要对产品灭菌后残留的 EtO 总量进行考察。这包括纸板箱空隙里和初级包装里的 EtO 以及吸收/吸附于纸板、包装、产品和货盘中的 EtO。

## 1.2 真空泵的更换

真空泵的更换通常涉及一个直流液体环泵转换成一个完全密封的回收泵的问题。这将消除任何连续流动的液体排到废液管中。密封剂可以是水, 也可以是油。应用水时将使最大真空度受到限制, 因为蒸气压作用会使最大真空度适当减弱。使用油则没有这种限制。

## 1.3 热脱气

厂房中工人暴露于 EtO 的主要途径是产品从灭菌器中移出后的脱气操作。不同类型的产品吸收、捕获不同量的 EtO, 这取决于产品的特性、组成材料、包装以及暴露的灭菌周期。遗憾的是, 并非所有吸附捕获的 EtO 均能在灭菌器的排空后操作中除去。因此, 在产品从灭菌器移走后剩余的 EtO 要进行脱气。这个脱气过程一般在常规厂房环境中进行一段较长时间 (几天)。通常在这个阶段有必要对产品进行检疫。

人们很久以前就知道在热脱气室中使用热可以加速 EtO 脱气。也可在灭菌器后直接建一个热脱气隧道。在这种情况下, 灭菌器必须有两个门, 其中一个必须能够自动从灭菌器取出托盘并自动把它们输送到隧道中。

## 1.4 自动化系统

保护工人最有效的办法是使他们远离所有操作, 比如装载、卸载、启动步骤等。所以灭菌过程应该自动化、电脑化<sup>[20]</sup>。除了保护工人外, 电脑化的系统允许对灭菌循环进行“自我认证”, 这增加了灭菌循环效率的重现性优点。

图 1 展示了一种工厂的设计, 这种设计除了操作面板附近外均不使用工人。残留量监测应包含在该系统中, 应监测环境、所有加工过的产品和排出物。在各种选择中, 气相色谱, 特别是顶空气相色谱, 是使用最多的一种测定方法。

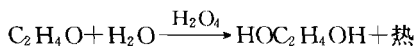
## 1.5 环氧乙烷的排放控制

在周围环境控制中, 为了将 EtO 对人类的间接污染降到最低程度, 必须控制其不同形式的排放量。例如, 根据 1986 年 TA-Luft 修正案 (德国空气污染法规), EtO 的排放限度定为: 当 EtO 质量流大于 25g/h 时, EtO 浓度为 5mg/(N<sup>3</sup>·m<sup>3</sup>)。Mayer 等<sup>[21]</sup>介绍了一种简洁恰当的工厂设计, 如果安装了聚乙二醇反应装置, EtO 灭菌时就能保证符合上述的排放限度。

目前用来控制 EtO 排放到环境中的这些技术有利也有弊<sup>[22]</sup>。

## 1.6 水净化

水净化技术涉及在填充柱中将 EtO 吸收到水中。从灭菌器中排放的气流从底部进入柱子, 然后再向上通过填料。在该系统里, 气态的 EtO 吸收到水溶液中, 之后与水发生反应产生乙二醇, 促使溶液冷却和循环, 从而进一步清除 EtO。使用酸 (0.1mol/L 是一个较理想的浓度, 见图 2) 与水的反应是一种较好的选择。无论如何, 有必要在排放到环境之前对水进行中和处理 (通常每年一到两次)。





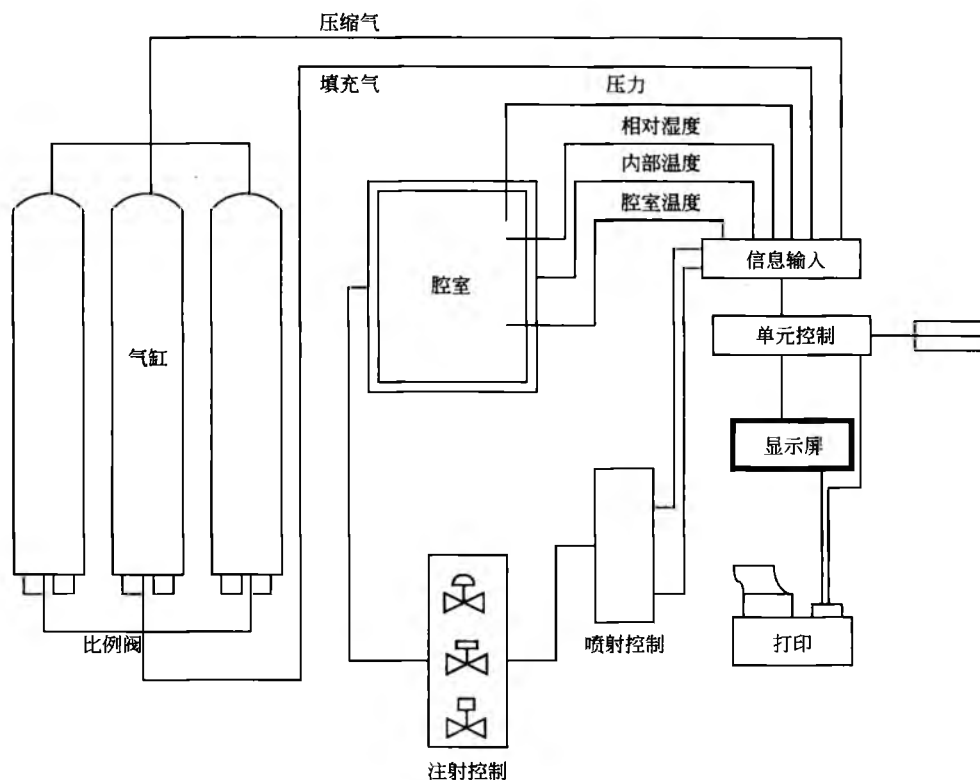


图1 具有自动化系统的灭菌厂房示意图

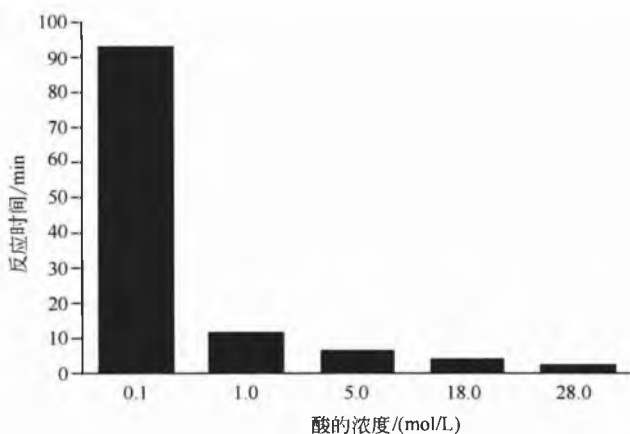


图2 生成乙二醇的反应时间考察图

### 1.7 热灼烧

热灼烧方法在高温下（特指 760~982℃ 或 1400~1800 ℉）使用火焰来氧化 EtO 生成二氧化碳和水。0.3~0.5s 的灼烧时间足以高效破坏 EtO。

问题是设备成本太高，而且当存在氯化氢（HCl）和氟化氢（HF）混合物时，该方法的使用将受到限制。

### 1.8 催化氧化

在催化氧化系统中，用来灭菌的气流先被大量空气稀释，再加热到较低的温度（204~426℃ 或 400~800 ℉）。然

后，该混合物通过催化床。在催化床中 EtO 和氧气一起加热，转化为二氧化碳和水。

虽然 EtO 的氧化率高，但可能降解混合物产生毒副产物，如光气，而且设备成本较高。

## 技术新趋势

由于 EtO 易发生爆炸分解，所以纯液体 EtO 在火源存在时极易点燃<sup>[23,24]</sup>。EtO 液体分解的精确阈值因火源类型和容器几何形状而异。纯 EtO 蒸气在普通火源下可通过降解而爆炸。纯 EtO 蒸气在正常储存条件下，比 EtO 与空气的混合物或碳氢化合物与空气的混合物更难点燃。其潜在的分解性可通过以一定比例的惰性气体稀释 EtO 蒸气而消除。

虽然 EtO 本身可用来灭菌（最初用作灭菌剂），但现在已不这样使用了。相反，EtO 灭菌剂大部分与阻燃剂混合使用。在 19 世纪七八十年代，氟利昂 12，工业上写为 CFC12，可选择作为阻燃剂与 EtO 混合使用。最常使用的混合物含有 27.3mol%（12wt%）EtO 和 72.7mol%（88wt%）CFC12。这种混合物在工业上常表示为 12-88。同样，使用比例为 10：90 的 EtO：CO<sub>2</sub> 的混合物，但需要增加 15psi 的灭菌压力（该混合物仅含有 10% 体积的 EtO，而在 12：88 比例的混合物中含 27% 体积的 EtO）<sup>[10]</sup>。

由于应用 CFC12 产生的一些问题（CFC12 会对大气臭氧层产生严重破坏），现在全球已开始减少和消除 CFC12 的使用。这种限制虽然与惰性稀释剂有关，而不是与 EtO

有关,但是大多数使用者都已增加了这项职业性限制要求。这种新的科技概念促使人们寻找替代方法<sup>[25]</sup>。

其中一种较好的新方法是与二氧化碳混合。由于这些限制要求,具有可燃性、比例为 30 : 70 的混合物,已投入到新产房的构建中。

另一种选择是采用一种不可燃的 EtO-CO<sub>2</sub> 混合物。该混合物每单位体积中含有的 EtO 小于 40%,正如 12-88 一样。因此灭菌就能在更高压力、更长的暴露时间下进行。但是,EtO 与 CO<sub>2</sub> 蒸汽压的巨大差异导致了混合物在存储罐或筒中发生分离,增加了运输灭菌剂混合物的危险。该混合物因富含 CO<sub>2</sub> 而不能灭菌或因富含 EtO 而具有易爆性。

几家公司重新评价了应用 100%EtO 的情况<sup>[25]</sup>。事实上,建造防爆设备的高成本将从 100%EtO 中获得偿还。另外,事实上以 100%EtO 灭菌和以 12 : 88 的比例灭菌的主要区别是 100%EtO 灭菌的真空度一般要求较高,因此设备

中所有的空气将被抽出,然后以 EtO 与水蒸气的混合物替代。这种高度真空要求可通气的包装材料或通风口允许里面的空气能逃逸出来,因此包装不会像气球那样吹得很大而破裂。一般在 100%EtO 灭菌器上配备一个真空泵,以便即使有任何的泄漏发生,外面的空气也可被吸入灭菌器,而不会让 EtO 泄漏出来,这和正压灭菌器所能发生的一样。

现在,即使是对于最敏感的包装,大家也都知道如何将氮气等不活泼气体与 100%EtO 联合使用来获得安全灭菌,控制 100%EtO 灭菌器的现代计算机是一种多功能设备,压力可得到平衡。图 3 介绍了连接惰性气体到圆筒的设备简图。当圆筒清空时,有两种设备可以确保灭菌器的 EtO 供应是关闭的。一个设备是质量天平,当 EtO 的抽出量达到预设值并且压缩空气阀关闭圆筒时,可自动向计算机发出信号。另一个设备是计算机,当它感应到从 EtO 到惰性气体的变化时会阻止这种流动。没有这两个设备,圆筒内有可能充满惰性气体,当然就无法对材料进行灭菌。

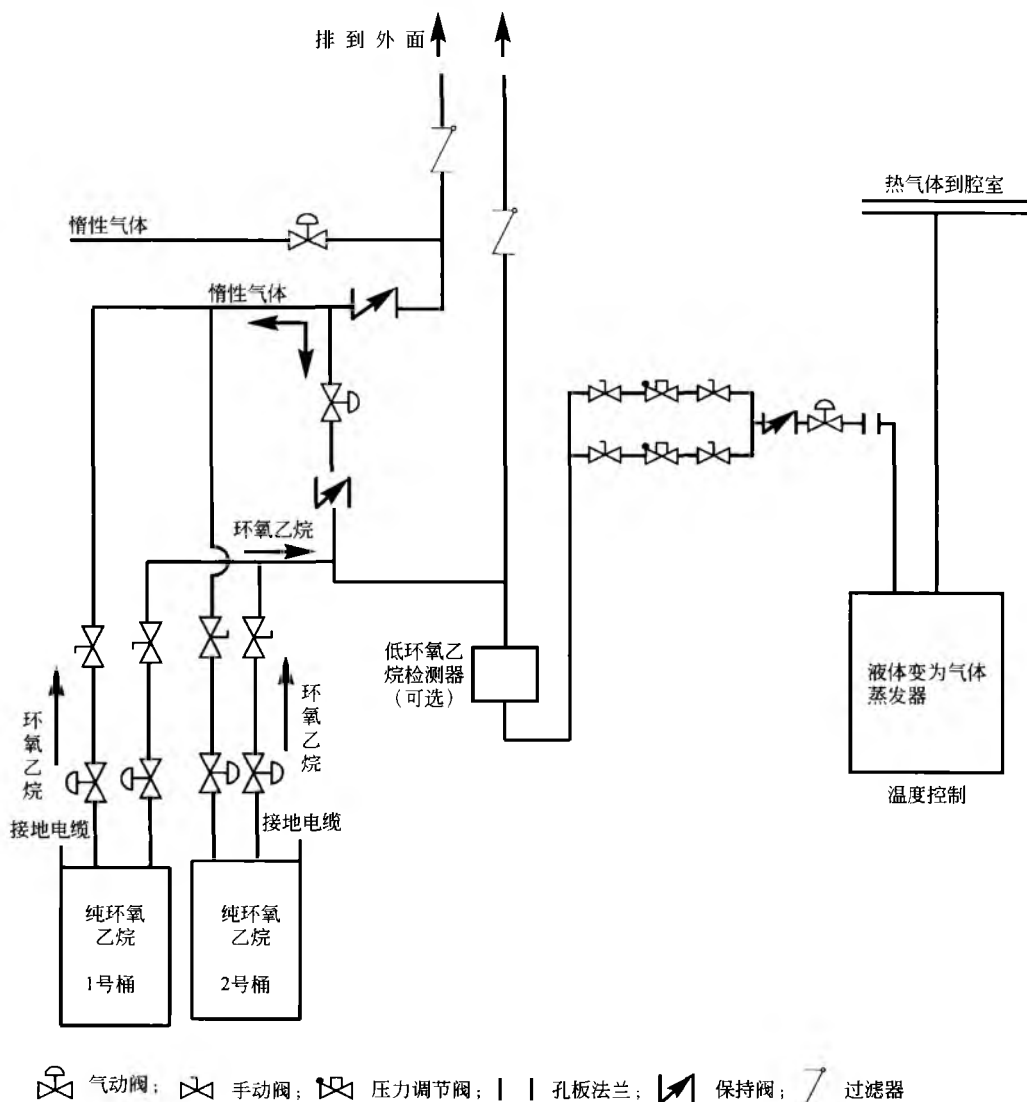


图 3 100%EtO 灭菌系统的安装示例



当然,在封闭的灭菌器-热交换器系统中没有电源开关或点火器。来自预处理室和湿度进样系统的产品都具有较高的湿度,可通过水分吸收 EtO 和消除静电产生而减少爆炸的可能性。

如果惰性气体流路连接靠近 EtO 源的 EtO 管道,惰性气体会排除流路中的 EtO,因而流路中充满惰性气体或排空。倒置过滤器并用惰性气体冲洗流路可避免过滤器收集任何 EtO,同时消除了在更换过滤器时的 EtO 暴露。更换过滤器可能是所有类型 EtO 灭菌器的主要暴露源,而该系统实际上消除了这个问题<sup>[22]</sup>。

由于能够通过高真空将 EtO 从包装中更有效地去除,故应用 100% EtO 灭菌技术将产生较低的残留。如 Christensen 所描述的<sup>[26]</sup>,真空的“脉动”过程不仅通过快速减少包装中 EtO 的量极大减少了形成乙二醇和氯乙醇的残留物,而且也使灭菌器外进行的脱气符合 OSHA 的限度要求。实际上,最近的趋势之一是在灭菌器内进行所有的脱气,所以永远也不会达到 OSHA 的暴露水平。该措施对 100% EtO 系统是理想的,特别是那些具有 EtO 处理部件的系统(图 4)。

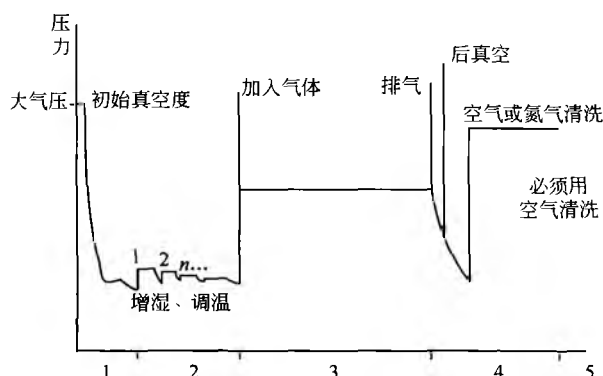


图 4 单次使用 100% EtO 灭菌的典型灭菌周期图

最近,关于消耗臭氧气体的知识和需要减少其效应的国际共识促使寻找能替代几种不同 CFC 应用的化学品。其中最有趣的是氢氯氟烷(HCFC),除了与 CFC 在爆炸性上和 EtO 在可燃性上类似之外,当没有更多的环境适宜化合物时,也可用作过渡性化合物。比较 EtO-HCFC (10:90)混合物与 100% 乙烯灭菌气体来确定其杀死七种不同细菌的相对能力,结果表明,EtO-HCFC 混合物能杀死增长型有机体和缺少血清和盐时的芽孢悬浮体,效果等同于 100% EtO 灭菌剂,对载体上这些污染物的效果更好<sup>[27]</sup>。而且,比较 Oxyfume® 12 (使用 EtO 和 CFC12, 12:88) 与 Oxyfume 2002 (使用 EtO、HCFC22 和 HCFC124, 10:63:27) 在不同浓度(450mg/L 和 600mg/L) 和不同温度(45℃、55℃和 65℃) 时的灭菌效果的研究得到了类似结果,浓度影响不大(类似的 D 值,使用枯草杆菌 niger 变种,ATCC 9372)。

这种新混合物的另一个优点是可以使用以前用于 CFC 混合物的相同装置和设备(图 5),只是在灭菌周期中略微

增加暴露压力和时间。唯一的担忧是,HCFC 到 2020 年将在加拿大逐步淘汰 2/9,到 2030 年在美国淘汰 3/9。

不同的选择要求不同类型的设备,设计目标是保护工人、保护环境以及产品的安全。

## 环氧乙烷灭菌法的验证和常规控制

即使无菌定义是一种绝对条件,灭菌的有效性可通过测量细菌的减少量而确定。这种测定揭示了细菌失活的动力学,并且正是从失活的指数性质才衍生出无菌保证水平(SAL)的概念。该概念是以 10 的负幂形式表示的。 $10^{-3}$  和  $10^{-6}$  两种 SAL 在全世界范围内均得到采用,但还是趋于采用单一标准: $10^{-6}$ <sup>[29]</sup>。

灭菌过程的验证是一种文件证明的步骤,包含获得记录和解释需要的数据,以表明过程始终服从预设的技术指标。除了要遵守 SAL 外,也要遵循产品的生物相容性和官能团性质。

目前最重要的标准是 ANSI/AAMI/ISO11139-1994 (ANSI/AAMIST27-1988 的修订版)。EtO 灭菌法的医学设备验证和常规控制已获医疗器械发展协会(AAMI)、美国国家标准研究院(ANSI)和国际标准化组织(ISO)的批准。该标准考虑到以下几方面的验证:委托使用和性能资格认证,包括物理和微生物的资格认证;要灭菌的医疗器械必须在确保其生物负担持续低的情况下生产。另外重要的一点是关于 AAMI 规范的,生物指示剂评价抵抗计(BIER)是一种评价生物指示剂灭菌法抵抗力的适当容器<sup>[30,31]</sup>。

验证标准文件的采用反映了医药工业向着安全、有效和生产标准全球一致化的方向发展。其目的是在所有市场中提供可靠性——灭菌过程是正确设计、测试和监控的<sup>[29]</sup>。

根据这个标准,使用 EtO 的灭菌过程应包括预调节和(或)调节、灭菌周期和充气。预调节和(或)调节处理必须控制各种条件,经过一个特定阶段,以获得负载内部特定的温度和相对湿度。灭菌周期包括:除去空气、条件化(如果使用的话)、灭菌剂的注射、暴露时间内特定条件的维持、灭菌剂的去除、冲洗(如果使用的话)和空气进入大气压。充气必须在产品保持在特定条件下,在灭菌器或一个单独的腔或室中进行。最重要的一个区别是 ISO11135 要求在验证和常规过程中均要对负载进行额外的温度和湿度监控<sup>[32]</sup>。

根据 ISO 的标准负载的温度和湿度必须在性能确认过程中进行测定。在灭菌剂加入到灭菌室之前,这些测量结果应分别在预调节和调节步骤结束前用于确定产品温湿度的范围指标。但在 ISO 标准(B)的附件中,只是作为一个指南,即在预调节结束时,在灭菌负载以内测得的温湿度范围应该分别不超过 $\pm 5^\circ\text{C}$ 和 $\pm 15\%$ 。

在暴露时间里,灭菌负载应达到最小指定温度。负载产品的温度范围在灭菌剂暴露的任何时间里应 $\leq 10^\circ\text{C}$ 。实

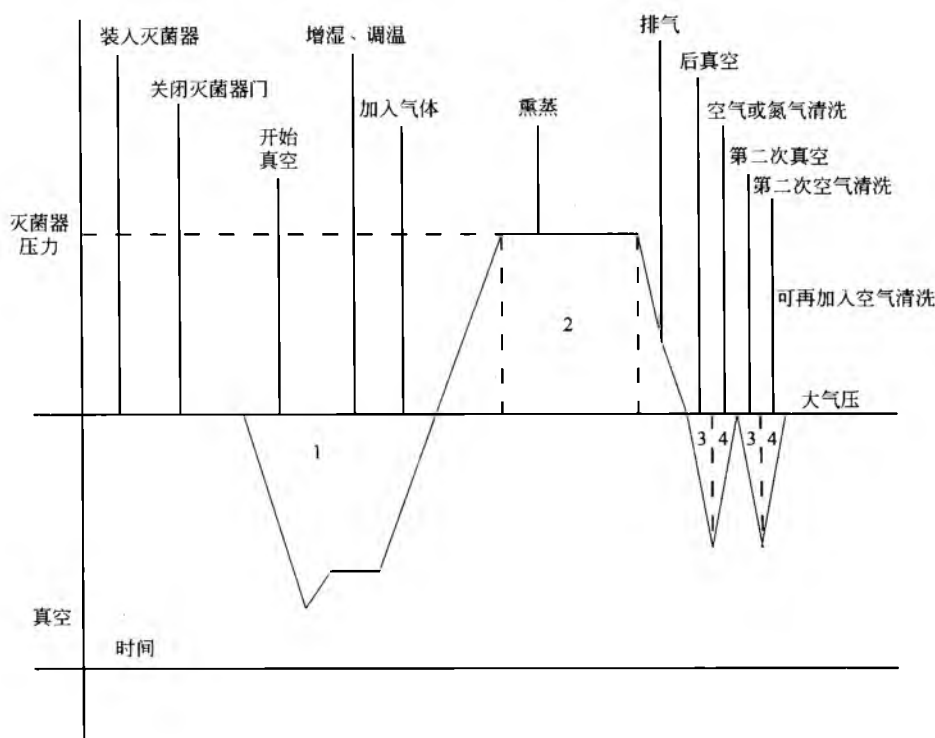


图5 CFC-EtO 和 HCFC-EtO 混合物的典型灭菌周期图。1. 预灭菌调温；2. 灭菌；3. 抽成真空；4. 空气或氮气清洗

际温度应在物理性能认证时确定。虽然长期以来要求对温度进行测量，却没有要求直接测定负载的湿度。厂家使用蒸汽压计算法来确保水蒸气在初始排空后添加到腔体中，随之增大的压力表明达到了细菌灭活适当的湿度水平。

若在引入 EtO 气体前中止灭菌周期，就可以通过目前使用的腔体湿度传感器进行灭菌法验证。仔细维护和校正这些传感器非常重要，但真正的挑战是改善传感器的技术状态。

在灭菌过程中需要对 EtO 的浓度进行双重检查（除了压力上升外，还有灭菌剂的质量和直接分析的体积）。在充气时，必须对与建立的特定范围有关的负载温度加以监控。微生物性能确认应通过 EtO 灭菌指示剂失活证明产品灭菌过程的充分性。必须建立产品的生物负荷。EtO 灭菌指示剂——枯草杆菌 *niger* 变种芽孢必须遵照 EN866-2。根据高 DNA-DNA 重组值和自动 Ribo-Print 分析的证实，枯草杆菌 *niger* 变种芽孢被认为是 *B. atrophaeus*。这些指示剂放置于在所选的周期条件下整个灭菌负载内致死率较低的代表性位置上。考虑到接种芽孢的容器，指示剂应体现负载的结构和在最坏灭菌器条件下对它进行保护的包装情况。在负载结构中这是被加入的最坏情况<sup>[10,34]</sup>。

根据标准，微生物认证可通过测定周期致死率来完成。致死率的测定方法有三种。第一种，通过对存活细菌的直接计数绘出存活曲线来测定致死率。使用分级 EtO 暴露时间，而除了时间，其他过程参数为常数，至少应有五个点在存活曲线上。第二种可能是部分阴性法（fraction-negative method），即 EtO 灭菌指示剂也在分级的暴露时间里暴

露于 EtO，除了时间之外，所有过程参数保持恒定。在暴露之后，EtO 灭菌指示剂应通过直接浸渍于适当的培养介质中来测试。以上两种方法都可以计算 *D* 值（图 6）<sup>[35]</sup>。第三种方法或称为半周期法，只在常规产品放行时使用。它涉及 EtO 最小暴露时间的测定，即在此时无存活细菌，其他所有过程参数，除时间外都保持为常数<sup>[21]</sup>。需要进一步进行两个试验以确定最小时间。两者从生物指示剂上均应显示没有生长。这个特定的暴露时间应该至少是最小时间的两倍。

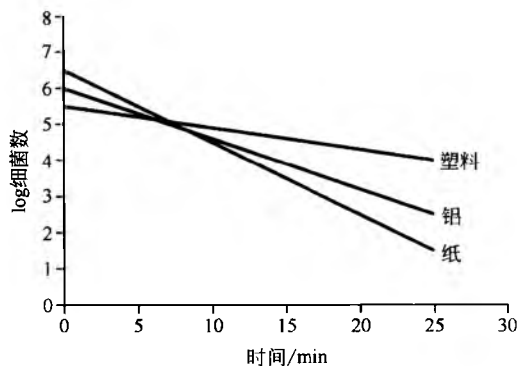


图6 对于枯草杆菌 *niger* 变种在纸、铝和塑料载体上测得的细菌致死率。对存活的细菌直接计数测定 *D* 值，*D* 值分别为 4310min（纸）、6143min（铝）、12 300min（塑料）

考虑到参数的处理，应更加注意与常规放行比较。在



这种情况下,需要二次测量腔体的温度,而腔体湿度和气体浓度必须直接监控,这是重要的挑战,主要与100%EtO循环的安全性有关(Norma ISO)。灭菌过程的内在特性降低了获得允许参数放行条件的兴趣,它与以前在产品放行中出现的EtO、乙二醇和乙烯氯乙醇有关,这需要更多的时间<sup>[36]</sup>。

Rodriguez等<sup>[37]</sup>提出的另外一种可能性认为,累积致死率(Fo)不但可应用于热灭菌法,而且也可应用于EtO灭菌技术的优化。他们已建立起一个通过EtO生物指示剂芽孢的失活数学模型和两个公式:计算灭菌周期中存活细菌的“响应”公式和确定暴露于EtO的累积致死率公式。实验证实,这些公式在相对湿度为15%~90%的范围内是可以应用的,使用户能够比较不同EtO周期的致死率。

在完成验证过程的时候,检测结果应编成试验报告,进行验证确认。

## 展望

尽管人们严厉批评EtO的毒性和对环境的影响,但是使用该气体(以100%或者各种比例)灭菌是应用最广泛的灭菌方法之一。与其他方法相比,EtO仍是一种较好的方法,因为辐射灭菌促使不同聚合物的分子发生改变,并且当<sup>60</sup>Co的活性过期时,<sup>60</sup>Co棒将导致长期的问题。除此之外,辐射难以持续加速电子,尽管这种现象现在已得到改善。

此外,与等离子灭菌法相比,EtO灭菌法具有广泛的效力并有可能进行工业灭菌器验证。与其他灭菌气体(甲醛、过氧化氢)相比,它在渗透、扩散、挥发、聚合和可混用性方面均具有优势。

因此,由于没有一个完美的灭菌剂,我们可将EtO工艺看成一种理想方法,尽管它对安全有效使用有一定的知识要求。

## 参考文献

1. Cotton, R. T.; Roark, R. C. Ethylene Oxide as a Fumigant. *Ind. Eng. Chem. Wash.* 1928, 20, 805—809.
2. Gross, P. M.; Dixon, L. F. Method of Sterilizing. U. S. Pat. 2,075,845, 1937. *Apud*; Ref. 8.
3. Hall, I. A. Sterilized Spices; New Factor in Food Quality Control. *Food Ind.* 1938, 10, 424—425, See also pp. 464—467.
4. James, L. H. Reducing the Microbial Content of Spices. *Food. Ind.* 1938, 10, 428—429.
5. Jensen, L. B.; Wood, I. H.; Jensen, C. E. Swelling in Canned Chopped Hams. *Ind. Eng. Chem.* 1934, 26, 1118—1120.
6. Smith, H. W. Treated Spices Reduce Spoilage. *Food Ind.* 1940, 12, 50—72.
7. Yesair, J.; Williams, O. B. Spice Contamination and Its Control. *Food Res.* 1942, 7, 118—126.
8. Phillips, C. R.; Kaye, S. The Sterilization Action of Gaseous Ethylene Oxide. I. Review. *Am. J. Hyg.* 1949, 50, 270—279.
9. Alguire, D. E.; Yeung, A. C. Making Cosmetics Microbiologically Safe. *Cosmet. Toiletries* 1979, 94, 77—80.
10. Pinto, T. J. A. Aspectos Fundamentais na Validação do Monitor Biológico Para a Esterilização por Óxido de Etileno. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas—USP, São Paulo, 1991; 203 pp.
11. Lencioni, E.; Panzarasa, L. La Sterilizzazione Con Ossido Di Etilene. *Boll. Chim. Farm.* 1977, 116, 378—392.
12. Ernst, R. R.; Doyle, J. E. Sterilization with Gaseous Ethylene Oxide; A Review of Chemical and Physical Factors. *Biotechnol. Bioeng.* 1968, 10, 1—31.
13. Ernst, R. R.; Shull, J. J. Ethylene Oxide Gaseous Sterilization. I. Concentration and Temperature Effects. *Appl. Microbiol.* 1962, 10, 337—341.
14. Gunther, D. A. The Chemistry and Biology of EtO Sterilization. *MD & DI* 1980, 6, 31—35.
15. Golberg, L. Hazard Assessment of Ethylene Oxide; CRC Press; Boca Raton, FL, 1986.
16. Turchi, G.; Bonatti, S.; Citti, L.; Gervasi, P. G.; Abbondandolo, A. Alkylating Properties and Genetic Activity of 4-Vinylcyclo-hexene Metabolites and Structurally Related Epoxides. *Mutat. Res.* 1981, 83, 419.
17. Vogel, E.; Natarajan, A. T. The Relation Between Reaction Kinetics and Mutagenic Action of Monofunctional Alkylating Agents in Higher Eucaryotic Systems. II. Total and Partial Sex-Chromosome Loss in *Drosophila*. *Mutat. Res.* 1979, 62, 101.
18. Desai, P. R.; Buonicore, A. J. Engineering Controls to Minimize Worker Exposure to Ethylene Oxide at Sterilization Facilities. *Plant/Oper. Prog.* 1990, 9 (2), 103—107.
19. Gunther, D. A. Evolution of Equipment, Techniques for Industrial EtO Sterilization. *Am. Perfume Cosmet.* 1970, 85, 35—38.
20. Lencioni, E.; Franchi, G.; Panzarasa, L. L'Autocertificazione nei Processi di Degermazione Con EtO. *Pharm. Acta Helf.* 1987, 62 (10—11), 306—312.
21. Mayer, V. F.; Agostini, G.; Schaber, K.; Koch, A. Abscheilung von Ethylenoxide bei Sterilisationsprozessen in der Pharma Industrie. *Pharm. Ind.* 1989, 51 (3), 294—298.
22. Buonicore, A. J.; Desai, P. R. EtO Emission Control Alternatives for Sterilization Facilities. In *A Safe Method in Safe Hands—A Practical Approach to Harmonization; EUCOMED Conference on EtO Sterilization*, Paris, 1989.

23. Britton, L. G. Thermal Stability and Deflagration of Ethylene Oxide. *Plant/Oper. Prog.* 1990, 9 (2), 75—86.
24. June, R. K. ; Dye, R. F. Explosive Decomposition of Ethylene Oxide. *Plant/Oper. Prog.* 1990, 9 (2), 64—67.
25. Reichert, M. Low Temperature Sterilization Alternatives-What Are the Real Costs? *Surg. Serv. Manag.* 1995, 1 (2), 38—43.
26. Christensen, D. E. Changing EtO Sterilizer Cycles to Reduce Ethylene Oxide Exposure Levels. *Med. Dev. Diagn. Ind.* 1984, 6, 27—35.
27. Alfa, M. J. ; Degagne, P. ; Olson, N. Bacterial Killing Ability of 10% EtO Plus 90% Hydrochlorofluorocarbon Sterilizing Gas. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 1997, 18 (9), 641—645.
28. Oliveira, D. C. Esteriliza ção Por Óxido de Etileno; Estudos De Efetividade Esterilizante de Misturas Não Explosivas e Compatíveis com a Camada de Ozônio. *Dissertação, Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP*, 2000; 159 pp.
29. Morissey, R. F. ; Bruch, C. W. ; Sharbaugh, R. J. ; Favero, M. S. ; Jarvis, W. R. ; Masefield, J. Sterility and Safety Assurance of Medical Devices. *MD & DI* 1992, 14 (4), 78—81.
30. Manning, C. R. Validation EtO Packaging/Sterilizer Configurations. *MD & DI* 1990, 1 (3), 52—58.
31. AAMI STANDARD. Biological Indicators for EtO Sterilization Processes in Health Care Facilities. *Estados Unidos*, 1986.
32. Booth, A. F. ISO 1135: New Standard Presents New Challenges. *MD & DI* 1994, 16 (2), 64—67.
33. Fritze, D. ; Pukall, R. Reclassification of Bioindicator Strains *Bacillus subtilis* DSM 675 and *Bacillus subtilis* DSM 2277 as *Bacillus atrophaeus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001, 51, 35—37.
34. Pinto, T. J. A. ; Saito, T. ; Iossif, M. Ethylene Oxide Sterilization; III-Influence of Carrier Nature in a Biological Monitor Performance. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1994, 48 (3), 155—158.
35. Paulson, D. S. Calculating D-Values for Steam Sterilization Processes. *MD & DI* 1995, 17 (5), 198—204.
36. Seille, J. M. ; Delattre, L. ; Meurice, L. ; Jaminet, F. Étude de l'Effet d'une Sterilisation a l'oxide d'ethylene sur les Teneurs Residuelles en Chlorhydrine du Glycol et en Ethyleneglycol Dans des Articles Medico-chirurgicaux a Base de PVC, Prealablement Irradies Au Cobalt 60. *J. Pharm. Belg.* 1985, 40 (4), 213—221.
37. Rodriguez, A. C. ; Young, B. ; Caulk, K. ; Zelewski, J. ; Kwasnica, S. ; Aguirre, S. Calculating Accumulated Lethality and Survivorship in EtO Sterilization Processes - The Availability of Two New Equations Makes It Possible to Compare the Effects of Dissimilar Process Cycles. *MD & DI* 2001, 5, 100—107.

(闻洪亮 陈 阳 译)

# 混悬剂

Robert A. Nash

Consultant, Mahwah, New Jersey, U. S. A.

## 引言

混悬剂是一种特定的分散类型或分散系统,在此系统中,内相或混悬相通过机械搅拌均匀地分散在外相中(称混悬介质)。一定粒径的固体均匀或非均匀分布的内相,在单个或特定组合的助悬剂支持下在混悬介质中均匀地分散。另外,与溶剂不同,混悬的粒子在外相中呈最小的溶解度。在胶体混悬剂中,固体粒子小于 $1\mu\text{m}$ 。在粗混悬剂中,粒子大于 $1\mu\text{m}$ 。在粗混悬剂中,单个可混悬的固体粒子实际上限 $50\sim 70\mu\text{m}$ 。当组成内相的一种或多种固体粒子制剂有用和(或)生理上具有活性时,系统即为药用混悬剂。

在乳剂中,内相的粒子以球形或液滴分散在液体外相中。即使粒子在高温( $50\sim 80^{\circ}\text{C}$ )下是液体在室温下呈半固体或固体,只要它们在显微镜下呈球形,通常就被认为是乳化而不是混悬。因而,存在混悬粒子的关键是粒子不成球形也没有确定的晶格结构。此一般规则的例外是微粒和相关的球状固体微粒。

## 分类

Martin 和 Bustamante<sup>[1]</sup>列出了药用混悬剂的三种类型:口服混悬剂(有时称为合剂)、外用混悬剂(局部洗剂)和可注射混悬剂(非胃肠给药)。

### 1. 口服混悬剂

口服混悬剂中的固含量变化较大。例如,在 $5\text{mL}$ (一勺)剂量下,抗生素制剂可含有 $125\sim 500\text{mg}$ 的活性固体物质,然而滴剂可能在 $1\sim 2\text{mL}$ 中提供相同量的不溶性药物。抗酸及造影混悬剂口服时含大量的混悬物质。载体可能是糖浆剂、山梨糖醇溶液或稠胶、含水的人工甜味剂等,因为除了成分外,安全性、味道及口感都是处方设计中需要重点考虑的。考虑到口服混悬剂储藏期有限(不溶性药物化学稳定性低),可以将其制成干颗粒或混合粉末,在使用前加水再制成混悬剂。

### 2. 外用混悬剂

历史上,外部应用的“振荡洗剂”是最古老的药用混悬剂的例子。美国药典的炉甘石洗剂和其他皮肤用药与药用混悬剂的技术发展密切联系着<sup>[2]</sup>。因为根据皮肤病治疗的可接受性、安全性和毒性方面需要考虑的事项是最受关注的,所以许多有用的助悬剂首先被引入到外用制剂中<sup>[3]</sup>。另外,局部洗剂的保护作用和化妆品性质通常要求

使用高浓度的分散相(内相),其浓度经常超过 $20\%$ 。因而,混悬效果最佳的外用洗剂具有低的沉降速率<sup>[4]</sup>。不同的药用载体被应用到外用洗剂的处方中,这些载体包括稀的水包油或油包水乳剂基质、皮肤用糊剂、乳浆剂和黏土混悬剂。

### 3. 注射混悬剂

通常,注射混悬剂中固体量为 $0.5\%\sim 5\%$ ,除了不溶性的青霉素外,此抗生素的浓度超过 $30\%$ 。这些无菌制剂设计用于肌内、皮层内、伤口内、关节内或皮下给药。注射混悬剂的黏度要足够小以满足注射要求。一般该混悬剂的介质含有 $0.9\%$ 的生理盐水溶液或可注射的植物油。选择注射用辅料首先要考虑安全性。滴入眼内的眼用混悬剂必须以无菌的方式制备。使用的介质必须是等张水溶液。

## 混悬剂的用途

当在所用的剂量下药物在水和水性介质中不溶或增溶会影响药物的稳定性和安全性时,通常选择混悬剂作为药物剂型。对于口服给药,药物的苦味或其他不适味道通常通过选择药物的不溶形式加以掩盖。

对于不溶或难溶的药物,水性混悬剂给药是有用的口服剂型。被分散的药物粒子大的表面积可以加速药物的吸收。不像片剂或胶囊剂中的药物粒子,混悬剂中的药物粒子在胃肠液中稀释后开始溶出并吸收。细粒子比大粒子溶出更快,有更高的相对溶解度。

注射混悬剂对于缓释或“储库式”释药是一个理想的剂型。药物以水性或油性混悬剂注入皮下或肌肉组织,使药物存储于注射部位。储库作为储藏室,缓慢地以一定速率释放药物(此速率与药物本身在水中的溶解度及水性或油性混悬介质类型有关),这样可以达到延长药物从注射部位吸收进入全身的目的。

## 亲水/疏水固体

不溶性固体,不考虑粒子大小,有相当低的表面张力,易被水润湿的称为亲水固体,包括黏土(皂土、高岭土、滑石粉、硅酸铝镁)、铋盐、硫酸钡、碳酸盐、氢氧化物、氧化钙、镁、锌和铝及二氧化钛。粉末表面的亲水性可以通过吸湿性研究来考察,此研究是将固体粒子暴露在不同的相对湿度环境下,如在室温和 $70\%\sim 80\%$ 相对湿度条件下能吸收空气中水分的即称作亲水性固体。

不容易被水润湿而且有相当高的表面张力的不溶性固

## H

体细粉,被称为疏水性固体。这些疏水性固体包括许多低密度有机物和药物,如炭和硫。这些粒子表面吸附空气后其疏水性更加明显。疏水性物质可以被油或半极性液体润湿,称作亲油性固体。

亲水性固体没有水分散性表面活性剂或润湿剂也容易混悬在水中,相反,亲油性固体没有亲油性表面活性剂也可以混悬在油或非极性介质中。亲水性固体的晶体密度通常在  $1.5 \sim 6.9 \text{ g/cm}^3$ , 而亲油性固体则在  $0.9 \sim 2.2 \text{ g/cm}^3$ 。

## 粒子大小的考虑

混悬的不溶性药物粒子的平均直径和粒径分布,对于设计稳定的药用混悬剂处方来说是特别需要考虑的。Hiestand<sup>[5]</sup>定义了粗混悬剂粒径的下限应大于  $0.1 \mu\text{m}$ 。除了黏土、氧化物、炭、颜料外,大多数药物的平均粒径很少小于  $1 \mu\text{m}$ 。尽管大多数的亚微米无机辅料具有与亲水性固体相似的性质,但多数不溶性药物和制剂辅料通常是软的、有机的结晶性疏水固体,其粒径从数微米至几百微米,甚至更大。

药物的粒子大小是一个重要因素,会影响产品的外观、沉降速率、药物稳定性、体内吸收、再分散性和混悬剂的总体稳定性。不溶性药物粒子很少呈均一的球形或立方体形,即使在减小粒径及筛分后也不会。粒径的宽分布导致形成高密度混悬剂。含有不同粒子形状(碟状、针状、丝状、棱柱状)的系统通常会形成低密度浆液。在混悬剂中,未受保护的溶解性药物固体随着时间逐渐变大以及粒径分布的改变是一个严重的问题。粒子晶体的生长通常归因于如下一个或多个机制:

(1) “Oswald 熟化”理论或称为以小粒子减少为代价的大粒子成长理论,因为不同大小粒子的溶解速率不同。例如,  $0.2 \mu\text{m}$  的粒子溶解速率增加 13%, 而  $2 \mu\text{m}$  的只增加 1%, 对于大于  $20 \mu\text{m}$  的粒子,溶解速率的增加几乎可以忽略。

(2) 储存条件下温度的波动对晶体生长的影响较小,除非温度变化在  $20^\circ\text{C}$  以上。

(3) 多晶型会变成另一种更稳定的晶型,晶癖的改变会影响溶剂化或水合程度。

(4) 当药物处在更高能态的无定形或玻璃态形式时,将明显比相应的晶体形式在水中具更高的初始溶解度。

(5) 通过粉碎或研磨可减小粒径,这些粒子不同的表面呈现或高或低的溶解速率。这种效应与在相互作用(研磨)下表面自由能的不同有很大关系。

晶体生长与粒径分布的改变可以通过如下一种或几种工艺技术加以控制:

(1) 选择粒径范围窄的粒子,如  $1 \sim 10 \mu\text{m}$  的微晶。

(2) 选择晶型稳定的药物,可以得到水中更低的溶解度。物理上最稳定的晶体形式通常有最高的熔点。

(3) 高能压磨不应用于减小粒径。微晶最好用控制沉淀技术或瞬间冷却的方法来获得。

(4) 水分散型表面活性剂/润湿剂可以减少固体与混悬介质间的表面张力,从而降低粒子的表面自由能。

(5) 保护胶体,如明胶、树胶或纤维素衍生物,可以在粒子周围形成一层膜障,来抑制溶出和晶体生长。

(6) 增加混悬介质的黏度可以延迟粒子的溶出和晶体生长。

(7) 不能让产品在储存期间内发生极端的温度变化(冷冻-熔融状态)。

(8) 过饱和溶液易形成针状晶体,故应避免。

(9) 快速冷却及高速搅拌易产生薄、小的结晶,也应该避免。通过蒸发缓慢结晶可压实晶体。

(10) 推荐不同结晶溶剂的试验来改变晶体大小与形状。

(11) 在结晶过程中,杂质或外来物可影响许多药物粒子系统的重现和聚集。

(12) 恒定的结晶条件是必要的。在晶体大小与形状上批与批的变化通常是由于工艺和结晶操作控制不到位造成的。

检验结果的波动可以通过制备均一的、混合均匀的或不沉淀的粒子混悬剂( $1 \sim 10 \mu\text{m}$ )来避免。粒径的减小可得到缓慢的更均一的沉降速率。减小混悬剂粒子的大小可以提高药物的生物利用度。而且,当注射给药时,药物粒子小于  $20 \mu\text{m}$  可减轻疼痛和组织刺激。然而,细小的粒子可能由于高溶出速率而对化学稳定性有不利影响。

### 1. 减小粒子大小

药物固体易于研磨。粒径减少至约  $50 \sim 75 \mu\text{m}$  的粒子通常产生自由流动的粉末。含有粒径小于  $50 \mu\text{m}$  粒子的固体在干燥状态下易聚集。而且,当粒径小于  $10 \sim 50 \mu\text{m}$  时,表面自由能的增加,小粒子团聚,成为影响粒子进一步减小的干扰因素。粉末可能变潮湿,特别是当其有吸湿倾向时。物料倾向成“球形长大”,表明聚集的团块比所包含的单个粒子更大。

随着粒径的减小,表面积的增加(更易被液体穿透),粉体粒子间的孔隙变得越小。聚集物行为像疏水固体,包被着空气,发生凝聚,更不容易被润湿。

得到细小粒子的最有效的方法是制备混悬剂之前干法研磨。分散设备,如胶体磨或均质机经常用来湿法研磨混悬剂成品,以打破那些不能被润湿的细小颗粒的凝集体或团块。制备粒径小、相当均一的药物粒子的几种方法有微粉化法、流能磨法、控制沉淀法和喷雾干燥法。图 1 显示了用于制药工业中获得细小固体粒子的四种设备。

#### (1) 微粉化

微粉化是最快捷、方便且价格便宜地获得细粉的方法之一。研磨的设备包括锤磨机、微粉机、通用磨、双辊磨机磨、球磨机。微粉机经高速摩擦或碰撞,特别适合极细粉粒的研磨。一些磨配备了分级机,可通过离心作用分离粒子。由于很难得到小于  $10 \mu\text{m}$  的极细粒子,所以粉碎



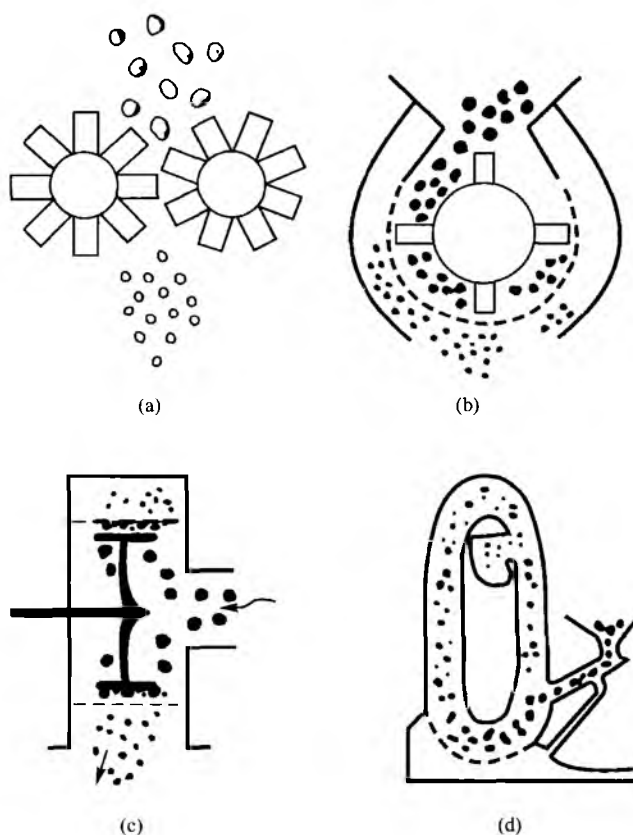


图1 四种基本的粒径减小设备用于制备固体细颗粒  
(a) 破碎机; (b) 锤磨机; (c) 胶体磨; (d) 流能磨

的粒子表面静电荷聚集的机会不多。微粉化的主要缺点是产生的粒子粒径分布很大,通常在 $10 \sim 50\mu\text{m}$ 或更大。尽管如此,对于大多数口服和外用混悬剂的制备来说,此方法仍较为令人满意。

#### (2) 流能磨

流能磨粉工艺也称为气流粉碎或微粉化,是将粒子减小至 $10\mu\text{m}$ 以下的最有效方法。粒子在有限的空间里通过压缩空气高速流的剪切作用可获得极细粒子。流能磨的主要不足是在粉体表面产生大量的静电,使粉体筛分与收集变得异常困难。然而,由于大多数注射混悬剂的药物粒子粒径在 $10\mu\text{m}$ 以下很重要,所以流能磨是生产这些产品最便捷的方法。

#### (3) 控制结晶

室温下易溶解固体的溶剂与另一种微溶该固体的溶剂混合后,可作为结晶的介质。温度在 $60 \sim 150^\circ\text{C}$ 时,在比此组合溶剂的沸点低 $10^\circ\text{C}$ 的温度下制备近乎饱和的溶液。微晶可通过降温 and 搅拌而从热的浓缩溶液中分离出来。然而,当热溶液通过搅拌和骤冷,形成过饱和状态,通过快速地加入另一种冷的相混溶的溶剂(药物在此种溶剂中仅微溶),这样形成的细小晶体粒子(晶核)还没来得及长大,因而可以得到药物的均一微晶。另外,在骤冷条件下超声也可促进微晶的形成。

#### (4) 喷雾干燥

微晶大小的粒子也可以用喷雾干燥的方法获得,得到多孔的、自由流动的、易润湿的、实质上单分散的粉末。适当控制工艺参数,得到的球状粒子也可用一些帮助混悬和增加稳定的辅料进行包衣。然而,该工艺通常不用于超细粉末的制备。

## 物理方面

### 1. 混悬剂的稳定性

混悬剂中药物的化学稳定性受降解速率控制,此速率是与水溶液中药物浓度有关而不是与产品中总的药物浓度有关。通常,因为固体相是逐渐溶解在溶液中的,所以混悬的药物只有在溶液中才会分解,也就是溶液浓度等于药物的溶解度。混悬剂中药物的降解通常遵循零级动力学,即降解速率仅依赖溶液中药物的饱和溶解度。减小混悬药物的溶解度,也会降低其降解速率。我们可以选择一定的pH或其范围,在此条件下药物溶解度最小,或者将药物制成难溶性衍生物或其盐,这样可改善稳定性。在混悬剂中的降解也可认为是一个扩散控制的过程,或是被环境因素,如氧、光或痕量金属催化反应的过程。

作为一般规则,药物混悬剂的稳定性问题至少是既受化学因素影响,也受物理因素影响的一个复杂问题。

因为混悬剂有一种以上的状态(液态和固态)存在,系统会有不同的方式遭受化学或物理的变化。稳定性预测的明显困难在于,用来确定沉降速率的静水力学关系(Stokes定律等)假设球形、反絮凝、自由沉降的粒子不受粒子与粒子、粒子与介质之间的相互干扰。根据到基本的稳定性关系,呈现非牛顿流体的混悬剂很难确定沉降速率。另外,用单个粒子描述的混悬剂并不反映整体的粒径分布。

化学稳定性预测有时是复杂的,很难测定混悬剂的pH,因为电极的表面包裹、混悬剂本体与上清液载体类型的差别,pH经常变动。而提高温度的加速稳定性试验经常对黏度、粒子溶解度和粒径分布有不利影响。

### 2. 反絮凝混悬剂

制备药用混悬剂的经验方法是想在合适的混悬介质中得到稳定的反絮凝的药物分散状态。过去,经常用不同浓度的助悬剂来制得一系列混悬剂,通过得到产品的外观(“光洁性”)和稳定性来鉴别处方。制得的产品常用均质机或胶体磨来改善最终的分散性。得到了外观“光洁”黏稠的混悬剂,但一段时间后,药物粒子缓慢沉降,形成紧密结合的沉淀物,甚至在剧烈振摇下也几乎不能再混悬。最初的粒子或小的聚集体在沉降期间到达容器的底部,彼此覆盖,产生压实的固体层。在如此紧密的沉降物中,粒子之间的相互作用是巨大的,因为粒子之间的距离很短,弱的范德华引力随着距离的减小而呈指数级增大。这些条件经常造成不期望的“成块或成黏团现象”,需要充分地搅拌

才能混悬。

这些早期反絮凝混悬剂的物理不稳定现象促使人们寻找其他的方法来制备物理上稳定的药用混悬剂。例如,使介质的密度与混悬的药物粒子的晶体密度相等或接近。如果药物粒子足够小而且介质有足够的黏度,根据 Stokes 定律,粒子将无限地保持混悬状态。因为大多数有机药物粒子的晶体密度在  $1.1 \sim 1.5 \text{ g/cm}^3$ , 在  $25^\circ\text{C}$  时密度足够高的口服液体介质只有 USP 山梨醇溶液 ( $1.29 \text{ g/cm}^3$ )、USP 糖浆 ( $1.31 \text{ g/cm}^3$ )、高果糖玉米糖浆 ( $1.41 \text{ g/cm}^3$ ) 可以考虑。然而事实上,仅靠密度匹配技术制备口服混悬剂是相当困难的,因为水和其他液体的稀释作用将使介质的密度减小。尽管如此,使用高密度液体作为混悬介质,对物理稳定性有较好的效果。

当混悬液体的绝对黏度在  $1 \sim 1000 \text{ cP}$  (或  $\text{mPa} \cdot \text{s}$ ) 时,以固体粒子与混悬介质之间的密度差分别为  $0.2$  和  $2.0 \text{ g/cm}^3$ , 测定了  $0.2 \sim 200 \mu\text{m}$  不同大小的非絮凝粒子的近似沉降速率。对于两种浓度的混悬固体的终端沉降速率用 Carpenter 法<sup>[6]</sup>计算,即小于  $2\%$  和  $20\%$  的浓度。据此分析,永久的混悬剂,即  $25^\circ\text{C}$  下沉降速率小于每年  $0.14 \text{ cm}$ , 可以在如下条件下获得:混悬液体的黏度为约  $1000 \text{ cP}$ , 密度差为  $0.2 \text{ g/cm}^3$  或更小,混悬剂中固体的平均粒径为  $0.2 \mu\text{m}$ 。对于大多数药用混悬剂来说这是很难满足的条件,因为在大多数药用混悬剂中粒径分布通常大于  $1 \mu\text{m}$ 。

尽管大粒子沉降比小粒子沉降更迅速,反絮凝系统或成胶体溶液系统在显微镜镜台中还是沉降很慢。最后,它们形成紧密的沉降物,很难再混悬。在显微镜下观察,分散的混悬剂由一个个粒子组成,无明显的黏连。

反絮凝混悬剂可通过三种方法得到。

### 2.1 高 $\zeta$ 电位的相互排斥

在混悬粒子表面吸附上电解质 (KCl) 或聚电解质 (六偏磷酸钠) 分散剂使微小的混悬粒子间产生强烈的排斥,这很容易得到高  $\zeta$  电位的排斥作用。例如,当  $\zeta$  电位在  $\pm(30 \sim 60) \text{ mV}$  时可得到中等程度的稳定性,当  $\zeta$  电位在

$\pm(60 \sim 100) \text{ mV}$  时,可得到极好的物理稳定性。当混悬粒子粒径大于  $1 \mu\text{m}$ , 且密度大于  $1.0 \text{ g/cm}^3$  时,  $\zeta$  电位的影响就显得不是那么重要了。

### 2.2 小的亲水或亲油胶体在大混悬粒子上的吸附

当强水化的亲水保护胶体,如明胶,吸附在混悬粒子的表面时,水的亲和力超过相邻粒子之间的相互吸引。保护胶体和含氢键的水分子在混悬粒子周围形成保护性的水化层。

### 2.3 吸附定向排列的非离子表面活性剂或聚电解质而形成空间位阻

吸附足够链长的非离子型聚合物 (树胶或纤维素) 或表面活性剂 (聚山梨酯-80) 造成空间位阻,阻止相邻的粒子靠近而结合起来。空间稳定比静电稳定的一个优势在于它对水性介质中的电解质非常不敏感。

因为许多药用混悬剂不能达到完全的静电排斥状态,不会产生反絮凝的粒子并维持其反絮凝性,因此许多研究者认为该工艺没有实用性<sup>[1,5]</sup>。

## 3. 絮凝混悬剂

Mattews 和 Rhodes<sup>[8]</sup>、Haines 和 Martin<sup>[7]</sup>、Hiestand<sup>[5]</sup>、Ecanow 及其合作者<sup>[9,10]</sup> 是公认的建立了“结构粒子”概念或絮凝药用混悬剂的研究人员。为防止混淆三个非常接近的概念:絮凝 (flocculation)、团聚 (agglomeration) 和凝结 (coagulation), 下面的定义被证明是有用的。聚集 (aggregation) 一词可用在全部的三种情况中。

絮凝指分散的粒子通过大分子物理吸附、化学桥连作用 (沉淀) 或远程范德华引力大于近距离的排斥力等方面的作用,形成网状结构的松散聚集物。絮状物指的是稳定的絮状沉淀,通常在网状结构中包含大量的液体介质和载体 (表 1)。

表 1 混悬剂的特性

类型	$\zeta$ 电位/ $\text{mV}$	相对沉降速率	平衡时在瓶中的沉降体积	从药瓶中倒液难易程度	再分散
团聚或凝结	0	非均一	低 (矮胖)	难	难 (可成饼)
过絮凝	0	很快	很高	难	易
轻微过絮凝	0	快	中等~高	一般	易
轻微絮凝不足	0	中等	中等	易	易
絮凝不足	$0 \sim 10$	慢	中等~高	易	一般
反絮凝或成胶体溶液	$10 \sim 30$	非均一	低 (层状)	易	难 (成饼很难,再混悬)

在团聚中,大量粒子在干燥空气条件或液体状态下紧密结合成团块。凝结或严重的过絮凝指仅在液体状态下粒子结块,有时也指形成液态凝胶结构。过絮凝系统的凝聚粒子和吸附的表面薄膜,在表面彼此接触,每个团块作为一个整体。如此凝聚的粒子靠强的薄膜与薄膜连接结合在一起。被凝结的混悬剂,像反絮凝混悬剂一样易结块。

在研磨混悬后很短时间内,除非采取预防措施,微粒随时有长大倾向。因未被保护粒子的溶解速率(Ostwald 熟化)比大晶体要高,晶体生长优先直至达到热力学更稳定时的分布为止。这种现象促进粒子“结块或黏合在一起”。

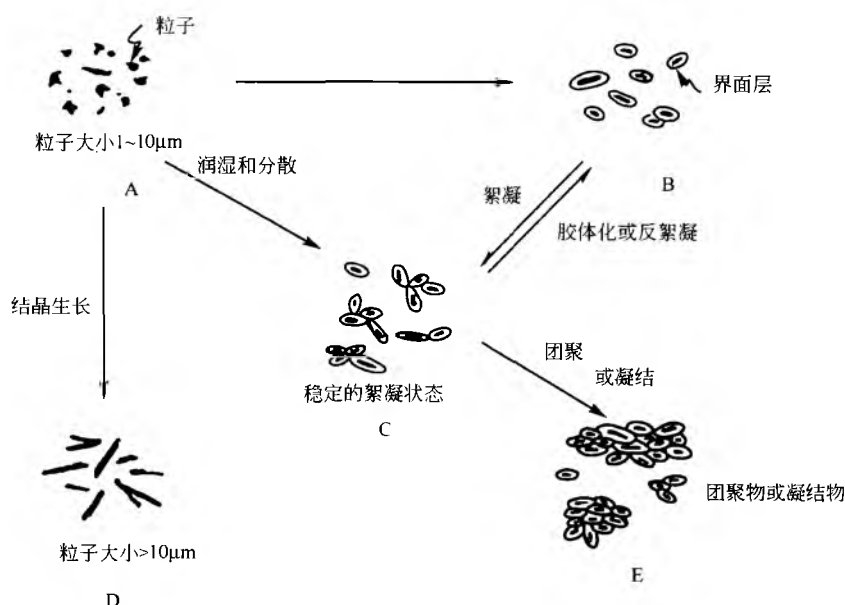


图2 混悬剂形成的过程

与胶体化或反絮凝的粒子相比,絮凝混悬剂(C)被认为是制剂稳定的(尽管胶凝不稳定),它总是能在温和搅拌下再混悬。另一方面,加入太多的絮凝剂或延长暴露在极端条件(凝固-融化循环)下的时间会导致严重的过絮凝,而产生不可逆转的团聚或凝块系统(E)。术语“plaque”(平板状)用来描述扁平状的团聚物,术语“coagula”(肿块状)则用于描述更致密的三维粒子团块。在无保护性胶体下,晶体的生长如连接A到D的箭头所示。一些作者<sup>[11]</sup>认为“稳定的絮凝”即部分的絮凝状态。简单地说,在团簇中粒子之间连接点数量越大,絮凝的程度越高。

稳定絮凝的主要优点如下。

在中等剪切力的作用下凝聚可容易地被破坏,如瓶的轻微振摇或让液体通过小孔(皮下注射针),外力撤除后,可重新形成粒子的稳定网络。因而,絮凝在黏度没有真正增加的情况下,赋予混悬剂一定的结构(图3)。

与胶体化或反絮凝系统相比,稳定絮凝物沉降很快,通常形成一个大的沉降体积,即使延长其存放时间,也易被再混悬。稳定絮凝物的沉降速率不快,定期的搅拌能保持其含量的均匀。稳定絮凝可以用无菌技术生产,使用的

保护衣或障碍层(用亲水胶体)可以给这些粒子提供最好的保护,避免晶体生长。因为保护性障碍可能或不能絮凝,被保护的粒子、电性(正或负)、粒子表面电势(包括双层)控制着其是絮凝还是分散(反絮凝)。

混悬剂的制备过程如图2所示,絮凝状态(C)可以直接通过用合适的能絮凝的表面活性剂润湿和分散疏水性粒子(A)而得到;也可用合适的表面活性剂首先润湿或分散,产生一被分散的或成胶体状的粒子(B),然后用合适的试剂,如亲水胶体或聚电解质絮凝而得到絮凝状态。

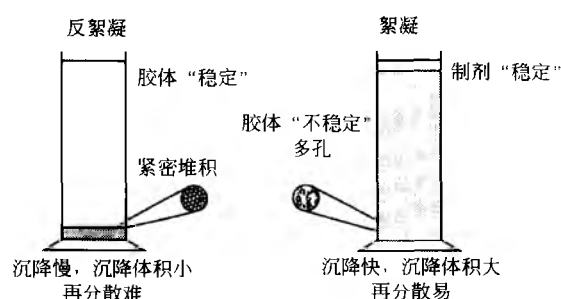


图3 絮凝和反絮凝混悬剂的特点<sup>[5]</sup>

介质成分用于肌肉注射必须是安全的。

絮凝混悬剂可以用几种方法制备,选择哪一种制法取决于药物的性质和所要求的混悬剂类型。下面的例子说明了怎样控制絮凝过程得到混悬剂。

(1) 将润湿剂聚山梨酯-80(最终浓度不大于0.1%~0.2%, w/v)溶解在最终体积约一半的水中。阴离子表面活性剂,如USP多库酯钠(泻药),也可用作润湿剂,但该试剂对pH和电解质浓度敏感。

## H

(2) 将所需浓度的药物极细小粒子均匀仔细地铺展在介质的表面, 静置 16h (过夜) 润湿。

(3) 将润湿的浆通过细金属网筛 (100 目大约为  $120\mu\text{m}$  或更大) 除去润湿差的粉末。一次通过胶体磨也能得到相同的结果。

(4) 将药物的浆浓缩物用浆状搅拌混合器温和地搅拌。

(5) 将少量 10% (w/v) 的六水合氯化铝溶液逐滴从滴定管加入到药物浆液中, 直到达到絮凝终点 ( $\zeta$  电位为 0)。为了测定终点, 取小样转入有刻度的圆筒中, 加入同样量的介质, 轻摇圆筒, 静置。当样品的沉淀物与总体积比例最高, 具有澄清的上清液, 好的倾液性能, 则可以认为是终点。通常需要不超过 0.1%~0.2% 的六水合氯化铝即可获得絮凝终点。10% 的氯化钙二水合物溶液也可用作絮凝剂, 此时, 为形成稳定絮凝, 可用 1%~2% 的钙盐。如果药物不能在含多价铝和钙离子溶液中絮凝, 则可认为水不溶性药物粒子带正电, 那么则要重复该过程, 使用多价阴离子絮凝剂, 如 10% (w/v) 六偏磷酸钠或 10% (w/v) 柠檬酸三钠。

(6) 在实现并确认絮凝终点以后, 加入其他的组分 (防腐剂、着色剂、矫味剂、缓冲盐等), 溶解在液体介质中, 加入液体介质至最终体积。

制备口服混悬剂的另一种常用方法是把药物混悬在亲水胶体 (明胶或树胶) 或稀释的皂土、黏土或胶态的硅酸铝镁的糊剂中。混悬在水、山梨醇或糖浆溶液中的絮凝剂的用量为 0.1%~1%。过絮凝可被加入的少量合适的表面活性剂或多价反絮凝剂所逆转。因为黏土不能用在注射产品中, 现将其他两种方法介绍如下。

第一种方法, 对制备物理稳定的“非结块”混悬剂特别有用, 包括用相应的强酸或强碱去滴定可溶的酸性或碱性药物盐的浓水溶液。水不溶性游离酸或碱在药物溶解度最小时的 pH 下沉淀出来。可以改变反应溶液的浓度和加入次序以制得可接受的稳定絮凝剂。如必要, 在沉淀过程中形成的电解质可通过浆倾泻或过滤而减少, 以调整张力和 (或) 保持物理化学的稳定性。此工艺也可在无菌条件下操作。

稳定的混悬剂也可以这样制备: 在浑浊的介质 (包含极好分散或乳化的半极性液滴) 中分散不溶性粒子, 可使液滴吸附在不溶性药物粒子表面, 产生稳定的絮凝。浑浊的水性介质通过非离子表面活性剂和防腐剂的相互作用制备。通过加入少量山梨醇到介质中, 可减小形成浑浊所需的表面活性剂与防腐剂的浓度。

#### 4. 结构化介质

制备稳定混悬剂的另一种技术是基于“结构化介质”的概念。在“结构化介质”中、剪切力很低的静态条件下、制剂的黏度在储存时接近无穷大。介质被认为起到“假体”的作用, 能维持粒子处在或多或少的永久性混悬剂状态。

结构化介质通常不能用于注射型混悬剂的制备, 因为其黏度高, 体系没有足够的通针性。

### 5. Bingham 型塑性流

呈现不同寻常的 Bingham 型塑性流变学性质的介质, 特征是在流动以前需要克服一定的屈服应力。大多数制剂系统的永久混悬剂需要屈服应力值至少为  $2\sim 5\text{Pa}$  ( $20\sim 50\text{dyn/cm}^2$ )。用药用树胶或亲水胶体很难制备 Bingham 塑性液体。《国家处方集》中的卡波姆在低溶液浓度和低黏度下具有足够的高屈服值, 能制备永久性的混悬剂。然而卡波姆需要 6~8 的 pH 以达到最大的混悬性能。该聚合物与阳离子树脂、某些多价离子、高浓度的电解质不相容。

### 6. 触变流

触变是一个具屈服应力的流变学性质。触变流定义为一个可逆的时间依赖的等温凝胶—溶胶转变过程。触变系统在相当高的剪切速率下容易流动。然而, 当剪切力撤除后, 系统缓慢重回到有结构化介质 (凝胶) 状态。触变的普通性质源自应力作用下絮状物的破坏和构建。系统中少量的粒子发生沉降直至系统具有足够高的屈服值。触变流的一大优点是剪切力下能倾倒, 而当剪切力在静态移除时又具有黏度和足够高的屈服力。

Bingham 型塑性和触变流混悬剂达到屈服力  $10\text{Pa}$  ( $100\text{dyn/cm}^2$ ) 所需的浓度见表 2。

表 2 25℃ 水中可达 10Pa 屈服值的混悬剂浓度

混悬剂	浓度/%
卡波姆 941	0.1
卡波姆 934	0.2
卡拉胶	0.5
羧甲基纤维素	2.0
黄原胶	2.0
褐藻胶	3.5
硅酸铝镁	5.0
羟乙基纤维素	5.0
瓜尔胶	5.0
黄芪胶	5.0

混悬剂系统如伪塑性体羧甲基纤维素钠与黏土 (水合胶体硅酸铝镁) 结合, 或与羧甲基纤维素钠和微晶纤维素的混合物或共沉淀物结合, 会显示一定的触变流性质。可以采用其他的伪塑性体 (如羟乙基纤维素或 HPMC) 以克服羧甲基纤维素钠的相容性问题。

### 7. 乳剂基质

为获得混悬剂系统的结构或“假体”, 乳剂基质或蜡型自乳化剂广泛地用于制药与化妆品行业。稀乳剂系统通常不用于混悬的目的, 因为将乳剂与混悬剂混合时情况会很复杂。在被其他的介质组分稀释之前, 药物粒子分散在主

要的乳化剂组分中。显示 Bingham 型性质或触变流体性质的乳化剂应该有可接受的处方性质（味道、稳定性等）。

## 混悬剂的处方设计

在制备物理稳定性药用混悬剂期间，使用许多的处方成分来保持固体粒子呈混悬状态（混悬剂），然而，其他成分本身作为液体介质的一部分，在剂型中有其他的功能：

（1）作为混悬系统的组分：①润湿剂；②分散剂或反絮凝剂；③絮凝剂；④增稠剂。

（2）作为混悬介质或外相组分：①pH 控制剂和缓冲剂；②渗透压调节剂；③着色剂、矫味剂和芳香剂；④控制微生物生长的防腐剂。

### 1. 润湿剂

润湿剂是表面活性剂，可降低表面张力，减少固体粒子与液体介质之间的接触角。当不溶性粉末加入到含润湿剂的液体介质中时，液相穿透粉末，足够快地赶出粒子中的空气。被润湿的粒子沉降成团或用低剪切搅拌来分散。被非离子表面活性剂润湿和铺展的最佳亲水亲油平衡值（HLB）的范围在 7~10，不过 HLB 值大于 10 的表面活性剂也经常被用于此目的。常用的润湿剂和表面活性剂包括：①阴离子型（多库酯钠，十二烷基硫酸钠）；②非离子型（聚氧烷基醚、聚氧烷基苯基醚、聚氧氢化蓖麻油、聚山梨酯和山梨醇酯）。

### 2. 反絮凝剂和分散剂

与表面活性剂不同，这些成分不能降低表面及界面张力，因而，它们很少会产生泡沫或润湿粒子。然而，大多数反絮凝剂内服通常不安全，内服产品可接受的分散剂只有卵磷脂或其衍生物（自然存在的磷脂混合物）。因为水中卵磷脂的溶解性和分散能力不同，应合理地控制产品的规格以获得好的重现性。

### 3. 絮凝剂

主要的絮凝剂是溶液中简单的中性电解质，它们能将混悬带电粒子的  $\zeta$  电位降到 0。低浓度（0.01%~1%）的中性电解质，如氯化钠或氯化钾，已足够诱导弱电荷水不溶性有机非电解质的絮凝。对于强电荷、水不溶性聚合物或聚电解质的絮凝，可能需要类似浓度（0.01%~1%）的水溶性二价或三价盐，如钙盐、铝盐、硫酸盐、柠檬酸盐和磷酸盐的存在。具体需要哪种盐，取决于粒子的电荷（正电或负电）。这些盐通常一起使用用作 pH 缓冲剂和絮凝剂。

### 4. 增稠剂、保护性胶体和助悬剂

保护性或亲水性胶体，如明胶、天然树胶和纤维素衍生物，能吸附在不溶性粒子上，通过氢键或分子间作用力增强混悬粒子周围形成的水合层强度。因这些试剂不减小

表面和界面张力，它们的功能在有润湿剂存在时最好。这些试剂在低浓度（<0.1%）下是保护性胶体，在高浓度（>0.1%）下是增黏剂。通常用在药用混悬剂中的助悬剂包括：

- 纤维素类：羧甲基纤维素钠、微晶纤维素（包括共沉淀物和两者的混合物），羟乙基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙甲纤维素、甲基纤维素、淀粉、羧甲基淀粉钠和粉末状纤维素。

- 黏土类：活性白土、皂土、硅酸铝镁、高岭土、二氧化硅。

- 橡胶类：阿拉伯胶、琼脂、褐藻胶、角叉菜胶、瓜尔胶、果胶、黄芪胶、黄原胶。

- 聚合物：卡波姆、聚乙烯醇、聚维酮、聚氧化乙烯。

- 糖类：糊精、麦芽糖、蔗糖。

- 其他：单硬脂酸铝、乳化蜡、明胶。

在混悬剂中用到的其他试剂在本章中不再讨论，如 pH 调节剂、缓冲剂、渗透压调节剂、稳定剂、介质、着色剂、矫味剂、芳香剂及控制微生物生长的防腐剂。

## 无菌混悬剂

无菌混悬剂（注射或眼用）通常具有和其他混悬剂不完全一样的特征，如易再分散、抽取，不能有外来的微粒物质和热源，可注射混悬剂应易通针。

无菌混悬剂的制备是一个困难的生产过程，它要求对以下步骤的细节进行严格控制：药物最后一步的重结晶、粒径减小、活性药物和混悬介质的灭菌，用一部分无菌的介质在无菌条件下润湿无菌药物粉末，无菌分散和无菌混悬剂的研磨，以及将制备好的混悬剂无菌灌装进无菌容器中。

生产无菌混悬剂的不同程序已由 Akers<sup>[12]</sup>、Grimes<sup>[13]</sup> 和 Portnoff<sup>[14]</sup> 报道。目前还没有药用的化学试剂能被加到最终的混悬剂中使其既无菌又安全。因而要求有一个精细的程序，对操作的关键步骤进行无菌检查。

好的注射混悬剂一个重要特性是可通针性，即注射溶液或混悬剂容易通过皮下注射针，特别是在注射前，产品从药瓶中转移至皮下注射器中的能力。介质黏度、密度的增加，混悬粒子粒径及浓度的增大，都会使这种转移变得更困难。

这些参数中最重要的是黏度。幸运的是，在注射混悬剂中，黏度是最容易控制的参数。稳定絮凝剂的制备对系统的整体黏度贡献不大（即所谓的爱因斯坦关系），不会对通针性产生不利影响。尽管个别粒子会疏松地聚集成大的聚集体，但它们在从药瓶到注射器并从注射器到注射部位很容易分散并重建。

倾液或混悬剂从主要容器瓶盖包装系统内壁无残留倾出的能力，是设计好注射型混悬剂的另一个重要参数。对絮凝系统的反絮凝显示此种性质，而过絮凝系统显示一定程度的不易倾液性，也称作“脱脂乳外观”，此术语巧妙地

描述了这种不好的状况。硅酮处理过的容器,即用二甲基硅油处理药瓶及瓶盖可改善倾液性能,并通过稍微过絮凝系统使弱倾液趋势逆转。

再混悬能力或通过最小的振摇分散沉降粒子的能力,是注射型混悬剂的重要性质。稳定的絮凝注射混悬剂在静置储存长时间后易再混悬。

## 化妆品混悬剂

可用的化妆品混悬剂有两种类型。第一种包含混悬在水性介质中的色素产品(液体化妆品、眼线膏、眉笔和胭脂)。这些产品具有高的固体含量、高密度、感触不到的粉末和色素,永久地混悬在水包油乳剂型基质中,或含亲水纤维素衍生物、黏土和(或)高分子成膜材料的复合体系中,此时,介质的胶凝和分散性通过 Bingham 型塑性体如卡波姆得到加强。

第二种包含含色素的指甲油。浅染色剂、颜料、珍珠、深红色颜料混悬在由有机亲水的触变胶体如 stearylkonium hectorite 助悬的非水性介质乙酸丁酯、乙酸乙酯和异丙醇溶剂中。在溶剂中溶解了主要的成塑性的硝酸纤维素和甲苯磺酰胺-甲醛树脂成膜材料。指甲油是一个非常好的非水介质中永久混悬剂的例子。

## 混悬剂的测试方法

Tingstad<sup>[15]</sup>回顾了测定药用混悬剂物理稳定性的方法。下文列出的流程用来测试处方的絮凝状态。因为制备稳定混悬剂的方法不止一种,下面的测试方法和性能指标对测定絮凝和分散系统的稳定性是有用的。

### 1. 外观

要注意在带刻度的玻璃量筒或透明玻璃容器中的外观。下列问题被引起注意:在平衡状态,沉降物的颜色和外观是否均匀?沉降物中是否有裂纹和空气?沉淀物上方的残留液是否均匀,是不是最少,或是否有凝聚的物料吸附在容器的内壁?

### 2. 光学显微检查

显微镜可用于估计和测试粒径分布和晶体形状的改变。一次成像的照相机连在显微镜上增强了显微镜的作用,能快速得到光学显微图(图4)。例如,要区分絮凝或非絮凝粒子,对其物理性质和稳定性等方面的测定是用的。在进行这些检测时,应有足够的视野和样品量。显微检测的稀释液应该用上清液而不是纯水。用合适的电子仪器可精确地检测单一粒径分布,如 Coulter Scientific 公司的电感应设备 Coulter Multisizer II 或来自 Particle Data 公司的 Elzone 280 PC 系统。通常用于粒径分析的方法列在图5中。

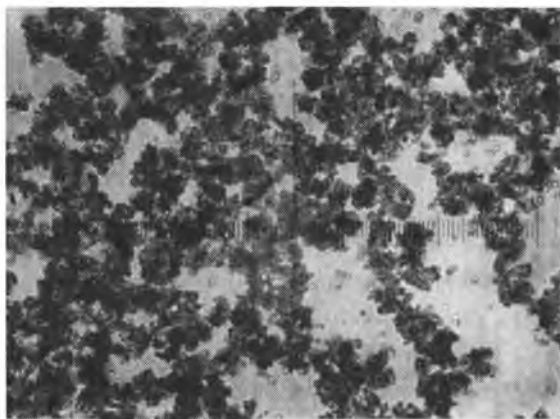


图4 一种絮凝固体混悬剂的光学显微镜图

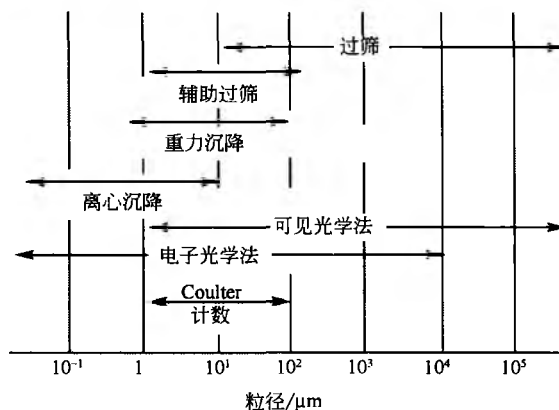


图5 粒径分析的一般方法

### 3. 颜色、气味和味道

这些特性在口服混悬剂中特别重要。颜色的改变通常提示粒径分布不好和(或)粒径大小有差异。味道的变化,尤其是活性组分味道的变化,通常归因于粒径、晶癖及粒子分散的变化。颜色、气味和味道的改变也提示其化学不稳定性。

### 4. 沉降速率、沉降体积和再混悬性

简单、价廉、具刻度的量筒(100~1000mL)用于测定混悬剂的物理稳定性。它们用于测定絮凝和非絮凝混悬剂的沉降速率及平衡时的沉降高度。混悬剂从液面到沉降界面的下降高度与时间成函数关系,在储存期间,定期重复测定沉降速率。在平衡时的沉降体积应该足够大到用温和搅拌就可让其均匀再混悬。平衡沉降体积在批与批之间应该是相似的,是可重复的。

量筒用于测定“F”或絮凝比率,其值为在给定的时间内,沉降体积与原始混悬剂的体积比。它用于测定絮凝的相对程度及混悬剂的物理稳定性。量筒的直径应足够大以克服“壁效应”,该效应经常影响絮凝混悬剂的沉降速率和平衡沉降体积。因为在容器内表面与混悬粒子间的黏附力

作用,所以小量筒有支持混悬的倾向。

## 5. 黏度

具升降配件的 Brookfield 黏度计是有用的流变学设备,用来测量沉降行为和药用混悬剂的结构,也可用来表征絮凝混悬剂的性质和稳定性。黏度计应该加以校正以测量在给定的温度下平衡时混悬剂的表现黏度,以确立混悬剂的重现性。表现黏度和 pH 一样,是一个指数关系的术语,因而表现黏度的对数是报告结果的一种合适方式。

## 6. 密度

混悬剂的相对密度或密度是一个重要的参数。密度减小通常表明在混悬剂结构中引入了气泡。在给定的温度条件下,密度的测量应该使用混合均匀的混悬剂,精密的比重计使这样的测量变得更加方便。

## 7. pH

水性混悬剂的 pH 应在一定的温度下测定,且仅在沉降平衡后进行,以减少“pH 飘移”和电极表面被混悬粒子的包覆。电解质不应加到混悬剂的外相中,以定 pH,因为中性电解质干扰混悬剂的物理稳定性。

## 8. 凝固-融化循环

对于混悬剂的物理稳定性,这是有用的指南。如果选择凝固-融化循环或升温来测试物理稳定性,在测试方案中应包括紧密相关的市售混悬剂的样品作为对照,因为药用混悬剂通常不是设计成能耐受储存期间极端的温度(最好 15~30℃)。

## 9. 药物含量均一性

对于以体积作为“使用单位”的混悬剂(如 5mL 口服液或喷雾吸入的产品),或从混合均匀的分散容器中取样,或从混悬剂的上部、中部和下部取样等情况来说,药物含量均匀性是重要的测试项目。

## 10. 溶出测试

这个技术仍在发展中<sup>[16]</sup>,目前较好的方法是将少量的已知量的混悬剂浸在一可靠的多孔膜小袋(聚偏氟乙烯)中,此小袋具合适的多孔性,像“袋茶”一样浸在 USP 第一法(桨法)设备<sup>[17]</sup>中合适的溶出介质中。要得到可重现的结果。必须进行实验条件的优化(搅拌速度、介质的体积和类型、温度等)。

## 11. 粒子大小测量

最近<sup>[18~20]</sup>,鉴于粒子表征和产品物理稳定性试验中粒径分布的重要性,人们对于更新的光散射方法用于粒子检测很感兴趣,此方法称作光子相关光谱法(PCS),PCS 方法能用于微米级混悬剂,也可用于纳米级混悬剂。

从这些设备中可获得的信息,包括平均粒径、粒径分

布、粒子浓度、分子质量估计、多分散性、粒子形状、流体动力学相互关系和凝聚机制等。

另外<sup>[21]</sup>,也有几个实验性方法可用于粒子大小测定,包括单个粒子光学检测(SPOS)、激光衍射(LD)和超声衰减(UA)。

## 12. 其他项目

效价、防腐剂效果、与主要容器一瓶塞系统的相容性、开瓶扭矩、模拟使用测试等,都应该在与传统液体溶液相似的条件下进行,也要保证在取样前充分混匀容器内容物。

## 纳米混悬剂

药用纳米混悬剂<sup>[22]</sup>通常是很小的固体药物粒子分散在水性介质中,用于口服、外用或注射、肺部给药。其与传统混悬剂关键的不同是固体粒子大小分布在纳米级范围,粒径一般小于 1 $\mu$ m,平均粒径范围为 200~600nm。

制备纳米粒子技术与制备传统的药物粒子相似,包括控制沉淀、使用玻璃或氧化铝珍珠的球磨及高压均质机。

用于注射目的的纳米混悬剂的灭菌是使用高压消毒锅的传统蒸汽灭菌法、 $\gamma$ 射线辐照法或在一定条件下的膜微滤灭菌法。

水溶性纳米混悬剂长期物理稳定性的关键是选择合适的水溶性表面活性剂或聚合物作为外相粒子的稳定剂,阻止粒子生长。几个具潜力的稳定剂是卵磷脂、磷脂、泊洛沙姆和聚山梨酯。

纳米混悬剂的物理稳定性可用电子显微分析技术来监测。

药用纳米混悬剂的主要优点是它们通过显著减小粒径,能增加水极不溶性药物的体内吸收。

## 参考文献

1. Martin, A.; Bustamante, P. *Physical Pharmacy*, 4th Ed.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1993; 477—484.
2. Marcus, A. D.; DeKay, H. G. *New Developments in Calamine Lotion*. *J. Am. Pharm. Assoc., Pract. Ed.* 1950, 11, 227—229.
3. Boylan, J. C. *The Development of Semi-Solid Dosage Forms: An Overview*. *Drug Dev. Commun.* 1976, 2, 320.
4. Robinson, M. J. *Third Annual National Industrial Pharmaceutical Research Conference*, Land O'Lakes, WI, 1961.
5. Hiestand, E. N. *Theory of Coarse Suspension Formulation*. *J. Pharm. Sci.* 1964, 53, 1—18.
6. Carpenter, C. R. *Calculate Settling Velocities for Unrestricted Particles on Hindered Settling*. *Chem. Eng. Nov.* 1983, 4.
7. Haines, B. A.; Martin, A. N. *Interfacial Properties of Powdered Material*. *J. Pharm. Sci.* 1961, 50, 228—232.

- 753—759.
8. Matthews, B. A.; Rhodes, C. T. Use of DLVO Theory to Interpret Pharmaceutical Suspension Stability. *J. Pharm. Sci.* 1970, 59, 521—525.
9. Ecanow, B.; Gold, B.; Ecanow, C. Newer Aspects of Suspension Theory. *Am. Perfum. Cosmet. Nov.* 1969, 84, 27—31.
10. Ecanow, B.; Webster, J.; Blake, M. I. Conductivity Studies of Suspension Systems in Different States of Aggregation. *J. Pharm. Sci.* 1982, 71, 456—457.
11. Michaels, A. S.; Bolger, J. C. The Plastic Flow Behavior of Flocculated Kaolin Suspension. *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 1962, 1, 153—162.
12. Akers, M. J.; Fites, A. L.; Robinson, R. L. Formulation Design and Development of Parenteral Suspensions. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1987, 41, 88—96.
13. Grimes, T. L. Scaleup and Manufacture of Sterile Suspensions, APhA 133rd Annual Meeting, San Francisco, March 19, 1986.
14. Portnoff, J. B. The Development of Sterile Suspensions—Case Study, APhA 133rd Annual Meeting, San Francisco, March 19, 1986.
15. Tingstad, J. E. Physical Stability Testing of Pharmaceuticals. *J. Pharm. Sci.* 1964, 53, 955—962.
16. Stout, P. J.; Howard, S. A.; Mauger, J. W. Dissolution of Pharmaceutical Suspensions. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1991; 4, 169—192.
17. United States Pharmacopeia 24, The Pharmacopeial Convention, Rockville, MD 2000, 4.
18. Castanho, M. Light Scattering and Photon Correlation Spectroscopy, NATO ASI Series, High Technology, 1997; 40, 31—36.
19. Constantinides, P. P.; Yiv, S. H. *Int. J. Pharm.* 1995, 115, 225.
20. Ruth, H. *Saint Int. J. Pharm.* 1994, 116, 253.
21. Nicoli, D. *Am. Lab. Jan.* 2000.
22. Müller, R. H.; Jacobs, C.; Kayser, O. Nanosuspensions. *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions*; Nielloud, F., Marti-Mestres, G., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000.
23. Banker, G. S.; Rhodes, C. T. *Modern Pharmaceutics*, 2nd Ed.; Rev. Exp., Marcel Dekker, Inc. New York, 1989, 339—353.
24. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd Ed., APhA and Pharmaceutical Press; London, 2000.
25. Martin, A.; Bustamante, P. *Physical Pharmacy*, 4th Ed.; Lea & Febiger; Philadelphia, 1993; 477—484.
26. Nash, R. A. *Pharmaceutical Suspensions. Pharmaceutical Dosage Forms, Dispersed Systems*; Lieberman, H. L., Rieger, M. M., Banker, G. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; 1, 151—198.
27. Zografi, G.; Swarbrick, J.; Schott, H. *Disperse Systems. Remington's Pharmaceutical Sciences*; Gennaro, A. R., Ed.; Mack Publishing Co.: Easton PA, 1990; 257—309.

(陈满仓 译)



# 火焰光度法

Thomas M. Nowak

Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U. S. A.

## 引言

火焰光度法作为一种定量方法被应用,可追溯到 19 世纪 60 年代早期 Kirchhoff 和 Bunsen 的工作<sup>[1]</sup>。然而,直到 20 世纪 40 年代,当仪器能够成功解决进样和检测重现性等问题后,火焰光度法才真正得到发展。不久,火焰光度法发展成为一种可靠的分析技术,用于测定一些阳离子,尤其是钠、钾和锂。这种技术可以用于原料药、制剂以及临床样品,比如血和尿的分析。

本章主要集中于传统意义上的低温火焰光度法。高温火焰光度法已经发展成几项单独的技术,通常根据其温度源进行划分,比如电感耦合等离子体-原子发射光谱法(ICP-AES<sup>[2]</sup>)。一些参考书中还讨论到其他分析方法,包括高温火焰光度法(flame photometry),将在此章中一并论述。

## 工作原理

火焰光度法和其他分光光度技术一样,都是利用元素被激发后从其基态跃迁到某一激发态时所具有的独特光谱性质。当受激发电子回到基态时,将在离散波长处发光。发射出来的光经光学过滤后被光度检测,建立发射光强度与被测物浓度的校正曲线后定量。

被测物以均一溶液形式进样,到达火焰时则以气溶胶形式存在。火焰提供足够的能量,产生处于基态的自由气态原子。另外,火焰提供部分能量使小部分原子激发到基态之上。通常,使用空气和丙烷(或空气和丁烷)的混合气提供火焰,其温度可达约 1900℃<sup>[3]</sup>。在高温火焰光度法中,原子化率进一步提高。无论是高温还是低温火焰光度法,火焰、炉体或者等离子体的温度都用于原子的受激发。这与原子吸收光谱法相反,后者使用离散波长的光源来激发被测物原子。原子吸收光谱中火焰温度主要用于产生足量处于基态的自由原子。

低温火焰光度法的能力主要依靠两个因素:第一,与绝大多数其他元素相比,碱金属元素和碱土金属元素原子(钠、钾、锂、铯、铷、镁、钙、锶、钡)能够在相对更低的温度下达到激发态;第二,发射波长提供足够的分辨率,这样能够在相对低廉的光学滤镜下完成工作。

## 仪器

20 世纪 40 年代,Perkin-Elmer 公司研制出第一台商业

化的火焰光度计。1948 年,Beckmann 公司开发出一种火焰附件,能够应用于其已大众化的 DU 型分光光度计中<sup>[1]</sup>。20 世纪 50 年代后期,出现了采用铯作为内标的仪器,从而大大提高了精密度。到了 20 世纪 70 年代,自动稀释功能和微处理器控制技术得到广泛选用。近来,最重要的发展是 Instrumentation Laboratory 公司采用铯作为内标(图 1~图 3),这样使同时测定锂变得更加可行。



图 1 采用铯为内标的火焰光度计(经 Instrumentation Laboratory 公司许可)

随着更多产热燃料的出现,早期的火焰光度计能够用于分析碱金属和碱土金属以外的元素。20 世纪 60 年代后期,原子吸收分光光度计的发展为分析化学家提供了一种测定这些元素的更加出色的工具。后来,高温火焰光度法的发展进一步削弱了低温火焰光度法的应用。然而,对于临床化学家来说,直到 70 年代中期离子选择性电极(ISE)分析仪开始出现,火焰光度计的作用才逐渐削弱。尽管由于其他分析技术的出现,传统火焰光度计的地位已经减弱,但火焰光度法在各种应用方法中仍是一种选择。

## 应用

火焰光度法的代表性应用是临床样品分析。血和尿中

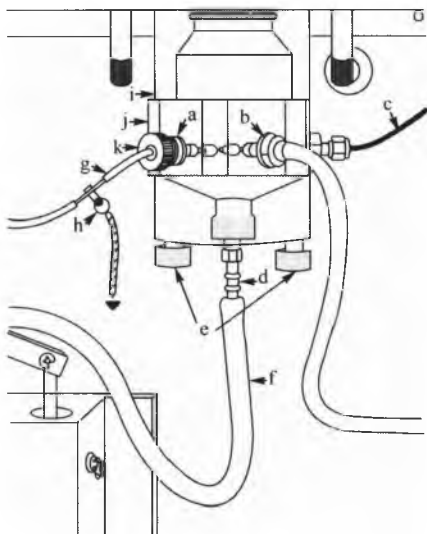


图2 IL943型火焰光度计的原化器（经 Instrumentation Laboratory 公司许可）。a. 进样口组件；b. 空气进口；c. 气体管路组件；d. 原子化器碗状排液口；e. 原子化器手拧螺钉；f. U形管；g. 进样喷嘴管；h. 接地；i. 原子化器顶部组件；j. 原子化器底部组件；k. 抽吸速率调节钮

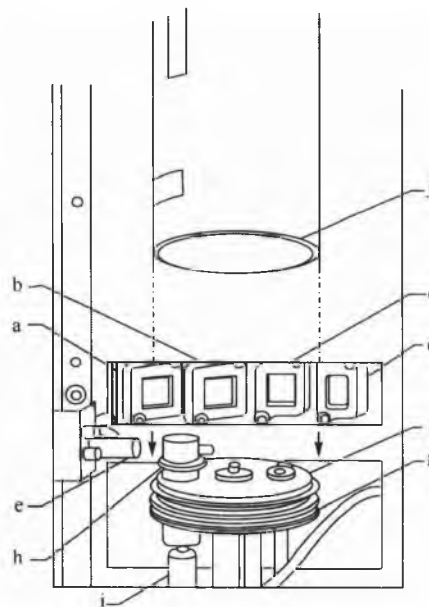


图3 IL943型火焰光度计的火焰部分（经 Instrumentation Laboratory 公司许可）。a. 钠滤镜，589nm；b. 钾滤镜，776nm；c. 锂滤镜，670nm；d. 铯滤镜，852nm；e. 燃烧检测器；f. 燃烧器组件；g. 橡胶垫圈；h. 火花电极；i. 点火线圈；j. 烟道

钠、钾、锂的浓度正好在仪器的工作范围内。该方法的专属性是其最突出的优势。在过去的25年中，人们设计出了自动化型的火焰光度计，以满足临床化学家的需要。仪器校准程序整合至主机中，从而使临床样品中钠、钾、锂的快速分析更加便利。

药物分析领域中的其他应用还包括注射剂中钠钾测定、原料药中痕量分析、溶出度测定和含量均匀度测定等<sup>[4]</sup>。

USP、NF或BP各论中至少收录了14种原料药，采用火焰光度法控制钠、钾杂质质量或者测定主要离子的含量（表1）<sup>[5,6]</sup>。USP和EP中均收录了外标法。1965年出版的USP17附录中首次收录了“试剂火焰光度法”（flame photometry for reagent）一章<sup>[7]</sup>。

USP或BP各论中至少收录了25种制剂，采用火焰光度法测定离子含量（表2）<sup>[8]</sup>。由于该方法具有单次测定成本相对较低（分析时间、仪器基本费用和试验配备等方面）、精密度高（通常相对标准偏差值为钠0.6%、钾1%和锂2%）、样品进样量少（某些情况下可低至10μL）和容易操作等优点，在各种情况下均适用。

## 分析误差的一般来源

多数应用中很少存在干扰。然而，因为每一新基质都可能产生问题，尤其是在其他元素大量存在情况下测定某一元素时，所以需要一定的研究。在一般分析中，液态样品用含有锂盐或铯盐的稀释液稀释100倍或200倍后测定。适当稀释样品溶液是消除干扰问题的最有效方法之一。总

的来说，样品一般需稀释到其质量百分浓度低于10%（不包括含有内标物质的稀释液）。如果稀释还不能消除干扰，应当采用原子吸收法。其对于多种基质中镁、钙和锌的测定具有优势<sup>[9,10]</sup>。然而，在某些情况下，样品预处理有可能使火焰光度法得到满意的结果<sup>[11]</sup>。

表1 USP、NF或EP收录的原料药

各论	含量
磷酸纤维素钠，USP	11%钠
叶绿铜复合物钠盐，USP	6%钠
碳酸锂，EP	0.03%钠
碳酸锂，USP	0.1%钠
枸橼酸锂，USP	锂
氢氧化锂，USP	锂
氢氧化镁铝，USP	0.11%钠
波拉克林钾，NF	钾
乙酸钾，EP	0.5%钠
乙酸钾，USP	0.03%钠
氯化钾，EP	0.1%钠
枸橼酸钾，EP	0.3%钠
硝酸钾，EP	0.1%钠
氯化钠，EP	0.05%钾

随着 ISE 技术的发展,直接测定(无需稀释)含有大量蛋白质或脂肪的临床样品中的钠钾成为现实。由于样品基体中存在非水成分,所以钠离子和钾离子所占体积小于样品总体积。使用一种需要稀释(火焰光度法)或者利用稀释(间接 ISE)的方法时,其测定浓度可以比使用直接 ISE 法的测定浓度更低。这种偏差大到有临床意义时(有时高达 7%),使该偏差显得重要,以致要注意所用的方法<sup>[12,13]</sup>。

## 前景

低温火焰光度法是一种成熟技术,应用于多数重要新领域的可能性不大。高温火焰光度法和原子吸收法的出现,适合于元素分析应用中的大多数新挑战。事实上,大多数火焰光度计的供应商们已经放弃了这个市场。越来越多的临床实验室使用离子选择性电极分析仪来进行钠、钾和锂的测定。然而,低温火焰光度法现有的应用使其继续得以生存下去,走向未来。

表 2 USP 或 BP 收载的制剂

各 论	用 途
抗凝剂枸橼酸磷酸左旋糖腺嘌呤溶液, USP	钠
枸橼酸, 氧化镁和碳酸钠灌肠液, USP	钠含量
半剂量的乳酸林格氏左旋糖注射液, USP	钠钾含量
乳酸林格氏注射液, USP	锂含量
碳酸锂胶囊, USP	锂含量
碳酸锂片剂, USP	锂含量
碳酸锂缓释片, USP	锂含量
枸橼酸锂糖浆, USP	锂含量
乳酸林格氏左旋糖注射液, USP	钠钾含量
复合电解质和葡萄糖注射液, USP	钠含量
口服补液盐, BP	钠钾含量
碳酸氢钠钾、枸橼酸泡腾片, USP	钠钾含量
氯化钾和葡萄糖静脉注射液, BP	钾含量
氯化钾和氯化钠静脉注射液, BP	钠钾含量
氯化钾和氯化钠注射液, USP	钠钾含量
氯化钾葡萄糖、氯化钠注射液, USP	钠钾含量
氯化钾、氯化钠、葡萄糖静脉注射液, BP	钠钾含量
枸橼酸钾和枸橼酸口服溶液, USP	钾含量
蛋白水解注射液, USP	钠钾含量
林格氏注射液, USP	钠钾含量
林格氏灌注射液, USP	钠钾含量
乙酸钠注射液, USP	钠含量
枸橼酸钠和枸橼酸口服溶液, USP	钠含量
三枸橼酸口服溶液, USP	钠钾含量
氨丁三醇注射液, USP	钠钾含量

## 参考文献

- Gardiner, K. W. Flame Photometry. Physical Methods in Chemical Analysis; Berl, W. G., Ed.; Academic Press: New York, 1972; III.
- DiPietro, E. S.; Bashor, M. M.; Stroud, P. E.; Smarr, B. J.; Burgess, B. J.; Turner, W. E.; Neese, J. W. Sci. Total Environ. 1988, 74, 249—262.
- Dean, J. A. Flame Photometry; McGraw-Hill: New York, 1960.
- Soltero, R. A. Clin. Chem. 1985, 31 (6), 1094.
- United States Pharmacopeia, The National Formulary, 24th Rev.; 19th Ed., National Publishing: Philadelphia, 1999.
- European Pharmacopoeia 2000; 3rd Ed., European Department for the Quality of Medicines: Strasbourg France, 1999.
- The United States Pharmacopeia XVII; Mack Printing Co: Easton, PA, 1965.
- British Pharmacopoeia, 1998; Her Majesty's Stationery Office: London, 1999; Version 2. 1.
- Williams, W. D. Flame Photometry and Atomic Absorption Spectrophotometry. Practical Pharmaceutical Chemistry, 3rd Ed.; Beckett, A. H., Stenlake, J. B., Hayworth, A., Eds.; Athlone Press: University of London, 1976; 2, 297—310.
- Oberdier, J. O. Atomic Absorption Spectrophotometry. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000; 1.
- Nielsen, I. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1986, 24 (5), 353—354.
- Burnett, D.; Ayers, G. J.; Rumjen, S. C.; Woods, T. F. Ann. Clin. Biochem. 1988, 25 (1), 102—109.
- Worth, H. G. J. Ann. Clin. Biochem. 1985, 22 (4), 343—350.

(陈 阳 译)

## J

## 极谱分析和伏安法分析

A. David Woolfson

*The Queen's University of Belfast, Belfast, United Kingdom*

## 引言

伏安法包含基于微电极的可控电解的所有相关测量。极谱分析由捷克电化学家 Jaroslav Heyrovsky 于 1922 年首次提出,它是采用一种特殊的汞电极-滴汞电极(DME)的伏安法分析。汞电极只能加上负电位,否则金属汞会溶解在水溶液里形成  $\text{Hg}^{2+}$ 。因此,极谱法是以电活性物质(金属离子或有电化学活性的有机化合物)在电导溶液中在以阴极被还原为基础的电分析方法。

相比之下,伏安法还包括阳极的氧化反应,尤其在流动体系中具有自净能力,可以避免固体电极表面受到电化学反应产物的污染而导致的电流-电位曲线的不可重复性。

## 极谱分析和伏安法分析的历史背景

汞的电毛细管曲线的测定从 20 世纪初就为众人所知,这是一种在电解质溶液中液态金属表面张力与施加电位成函数关系的现象。为此,特意设计了从极细的玻璃毛细管中滴汞的电极。但是,在电毛细管曲线上的特定位置出现了第二类极大值。当时人们不理解电毛细管曲线变形的真实原因,而这也正是 Heyrovsky 最初想研究并加以解释的现象。他注意到当在电解质溶液中加入某些阳离子时,在电毛细管曲线上接近已知的滴汞电极电化学过程电位附近出现了扭曲。当滴汞电极和含有金属离子的水溶液电解池底部形成的汞池之间施加的电压逐渐增加时,随着电位扫描过程的变化,电流有一个小的初始值,然后迅速增加,这是一个可重现的过程。电流快速增长的这一点,即阈电位,仅取决于被测溶液中金属离子的种类。电流随着施加电压的增加而呈线性地快速增加,直到电流最终恒定不变为止。这个与溶液中金属离子浓度呈正比的恒定电流值,是极谱法/伏安法分析的定量基础。Heyrovsky 创建了这一方法,研究在逐步增加外加电压(扫描电压)的条件下的滴汞电极的电流电位曲线,测定相应的平均电流,作出电流-电位曲线。此即极谱分析方法,有时候被称为经典或直流极谱法,以区别于现代出现的其他更多的方法。Heyrovsky 由于在极谱分析方面的发现和研究于 1959 年获得诺贝尔奖。

因为当时仪器较为复杂,使得实际操作非常困难,因此经典直流极谱法由于早期极谱仪(记录电流-外加电压曲线的仪器)的不可靠性限制了其发展。尽管该方法适合分析金属阳离子,但是具有电活性的有机化合物的分析应用仍受到非水溶剂系统的高电阻问题的困扰。因此使用由滴

汞电极和参比电极组成的双电极系统的经典极谱法只能应用于水溶液和水-醇体系。而且,金属离子的测定只能通过火焰发射光谱和原子吸收光谱这一类光谱法才能获得高的灵敏度。直到 20 世纪 50 年代末,这一形势才得到改变。固态电极的发展,使得改进的极谱法,如方波法、脉冲法、交流极谱法等纷纷出现。三电极体系的发展以及其与恒电位仪相连的回路,克服了非水体系的高电阻性造成的不利影响,拓宽了极谱法的应用范围。这些发展,组成了现代极谱法和伏安分析的基础,包括其在药学领域的应用,都被认为是极谱分析<sup>[1]</sup>的“复兴”。

## 极谱分析和伏安法的理论基础

在一个简单的电解实验中,电解质溶液在两平板铂电极(阳极和阴极)之间电解,有效的搅拌对于驱动离子朝两极运动非常必要。在外加电压的作用下,两极之间的电位差高到一定程度时,离子就会在电极表面放电。这一电极就是工作电极。离子放电电流就是电子的转移或法拉第电流,例如把电子转移给电极(阳极氧化)或从电极上得到电子(阴极还原)。法拉第电流一直存在,直到所有的电活性物质被电解消耗殆尽[图 1(a)]。用铂丝微电极取代铂平板电极,使用不搅拌的静止溶液,可以使电解电流达到一个极限值[图 1(b)]。

极谱法中的电流是指在电极和电活性物之间的电子转移。因此,极限电流是与主体溶液中电活性物的浓度成正比的。而电活性物质仅仅靠浓度梯度的扩散到达电极的表面,这一理论依然适用。极限扩散电流的概念是极谱分析和伏安法定量分析的核心。但是,因为电极表面易受到电化学反应产物的污染,极限电流的量是不可重现的。为了解决这一问题,需要使用表面可以更新的微电极。微电极在使用时必须确保每次极谱分析时只消耗极微量比例的电活性物质,基本不会破坏被分析物。伏安法所使用的合适的工作电极,应该是能响应外加电压并产生新的电位的电极极化过程。电活性物质在工作电极上的还原或氧化导致了电极的去极化。去极化这个术语也因此在某些时候被用来描述电活性物质。在伏安法中,工作电极由金或铂类金属,不同形式的碳,或金属汞制得。

采用从极细的玻璃毛细管中滴出的汞作为极化电极有不少优势。最关键的是电极表面随着毛细管尖端汞滴的不断形成而不断更新。滴汞电极的电联通可以在玻璃毛细管接一黄铜接线管,另一端与液体汞柱相连。汞作为电极最大的缺点是环境因素、流动体系中使用汞的困难性(尽管目前在某种程度上是可行的),以及局限于分析可在

阴极还原的电活性物质。安全问题及实际操作可以通过多模式电极极谱法/伏安法电极来解决。这些方法可以取代经典的滴汞电极,除了中间的静止汞滴电极(SMDE),在溶出分析中也有用悬汞电极(HMDE)。多模式电极也可以取代静止状态和搅拌状态下非滴汞电极伏安法应用中使用的电极组。旋转电极的使用也值得一提。对汞电极而言,多模式电极比较紧凑,不需要汞柱的重力作用来产生汞滴。而且汞滴是在氮气的压力作用下形成的。汞是密封的,因此非常安全,形成200 000滴汞滴仅仅需要几毫升汞,没有必要经常灌注。

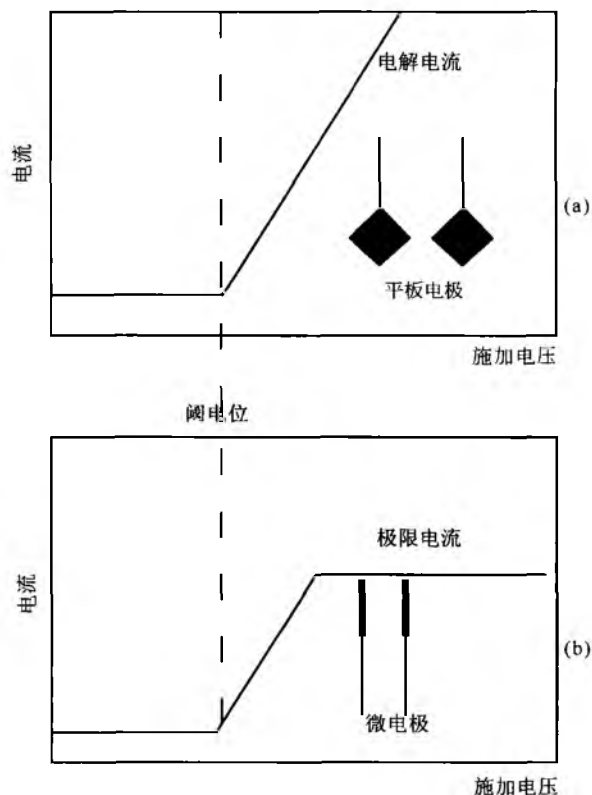


图1 电解电流和极限电流的比较。(a)在铂平板电极之间施加高于电活性物质阈电位的电压后产生的法拉第电解电流;(b)铂丝微电极取代铂平板电极的影响。在不搅拌的情况下,随着外加电压的线性增加,电流达到极限值

## 1. 经典直流极谱分析

在使用滴汞电极的经典极谱分析中,与在经典的电解反应一致,当所施加的电压足够负时,就会发生电化学还原反应,例如所施加的电压超过去极化剂的阈值。所施加的电压通常以2~10mV/s的斜率线性斜坡形增加。然而,和电解过程不同,斜坡电压的施加所产生的电流不会无限增加直至电活性物质耗尽,电流将达到图2所示平台所代表的极限值。电流是有限的,因为当所加电压足够负时,电子转移的速率是瞬时发生的,超过了电极表面去极化剂供给的速率。由于去极化剂只能通过浓度梯度扩散到电极

表面,这是一个受扩散限制过程,所产生的电子转移电流是极限扩散电流(图2)。极限扩散电流与主体溶液中被测物浓度呈正比。

在电极间电场的作用下,电活性物质也能通过迁移到达电极的表面。所产生的迁移电流不依赖于扩散作用,不受浓度梯度影响。在溶液中加入实验工作电压下不放电的电荷载体,可以消除迁移电流。各种不同的盐溶液可以实现这一目的。更为方便的是,由于电化学反应多数是受pH控制的,所以可以使用缓冲溶液。这种溶液有时候被称为基底,有时候被称为惰性物质,或者支持电解质。尽管支持电解质所带的离子带有电荷,能在溶液中运动,但由于没有去极化剂就没有法拉第过程,外部回路中就不会产生电流。

电活性物质可以通过对流到达电极表面又产生了对流电流。对流效应是由于搅拌溶液,或有时是热流造成的。因此,极谱分析和伏安法是在静止(不搅拌的)溶液中进行。

当其他质子传递过程被消除以后,浓度依赖的物质传递过程就是电活性物质随着浓度梯度朝着电极表面的扩散过程。随着电活性物质靠近滴汞电极的表面,它将被电化学还原。因此在一个窄的溶液层,即紧邻汞滴表面的扩散层中,电活性物质的浓度将比主体溶液的低,这样就造成了浓度梯度。Fick扩散定律以 $d$ 表示电活性物质扩散通过的窄的扩散层的厚度,以 $i_d$ 表示扩散电流,得出公式(1)

$$i_d = n \cdot F \cdot A \cdot D \cdot (C - C_i) / d \quad (1)$$

式中: $D$ 为电活性物质的扩散系数; $F$ 为法拉第常量; $A$ 是汞滴表面积; $n$ 为每个分子去极化剂的电子转移数; $C$ 为去极化剂的主体浓度; $C_i$ 为去极化剂在扩散层中的浓度。

由于 $C_i$ 接近零,扩散速率就与去极化剂的主体溶液浓度成正比。当超过阈电位后,电子转移反应就会开始,随着电位的逐步增加,反应速率也会继续增加,直到超过通过扩散作用提供去极化剂给电极表面的供给速率,并且所有其他质量传递过程都受到抑制。在此条件下,扩散过程成为限速阶段,由此产生的法拉第电流 $i_d$ 就是通常所说的极限扩散电流(the limiting diffusion current)。由于 $i_d$ 是通过测定多次单个汞滴周期,因此其恰当的描述是平均极限电流,可由式(2)表述, $i_d$ 和 $C$ 是唯一的变量。

$$i_d = n \cdot F \cdot A \cdot D \cdot C / d \quad (2)$$

极限扩散电流可以由Ilkovic公式定量地表达[见公式(3)]。

$$i_d = 708 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6} \cdot C \quad (3)$$

式中: $m$ 为汞从滴汞电极流出的速率,mg/s; $t$ 为汞滴形成周期,s; $D$ 的单位是 $\text{cm}^2/\text{s}$ ; $C$ 的单位是 $\text{mmol/L}$ ; $i_d$ 的单位为mA。

## 2. 双电层

当极谱池中只有惰性电解质存在时,仍然有残余电流通过。这种非法拉第电流,是由靠近电极表面的溶液双电层的形成引起的(图3)。施加电压后,电流形成了双电层,

这一过程类似于平板电容器的充电。因此充电电流为电容电流，随着液滴周期的变化而变化，亦即随汞滴大小的变化而变化。在汞滴形成的初始阶段，汞滴表面积迅速增加，电容电流达到最大，在汞滴形成末期，汞滴增长到最大时汞滴表面积在瞬时恒定不变电容电流减小到最小。由于在不同的电极电位下汞的表面张力不一样，电容电流的大小

和方向随所施加电位的变化而变化。当汞滴表面张力达到最大时，在汞滴表面实质上就没有双电层存在，因此也就没有电容电流，这一点被称为电毛细管极大值。在此电位之上，当汞滴带有负电荷时，双电层的极性反转，电容电流也会相应改变方向。实际的结果是在极谱波上叠加熟知的锯齿波（图2）。

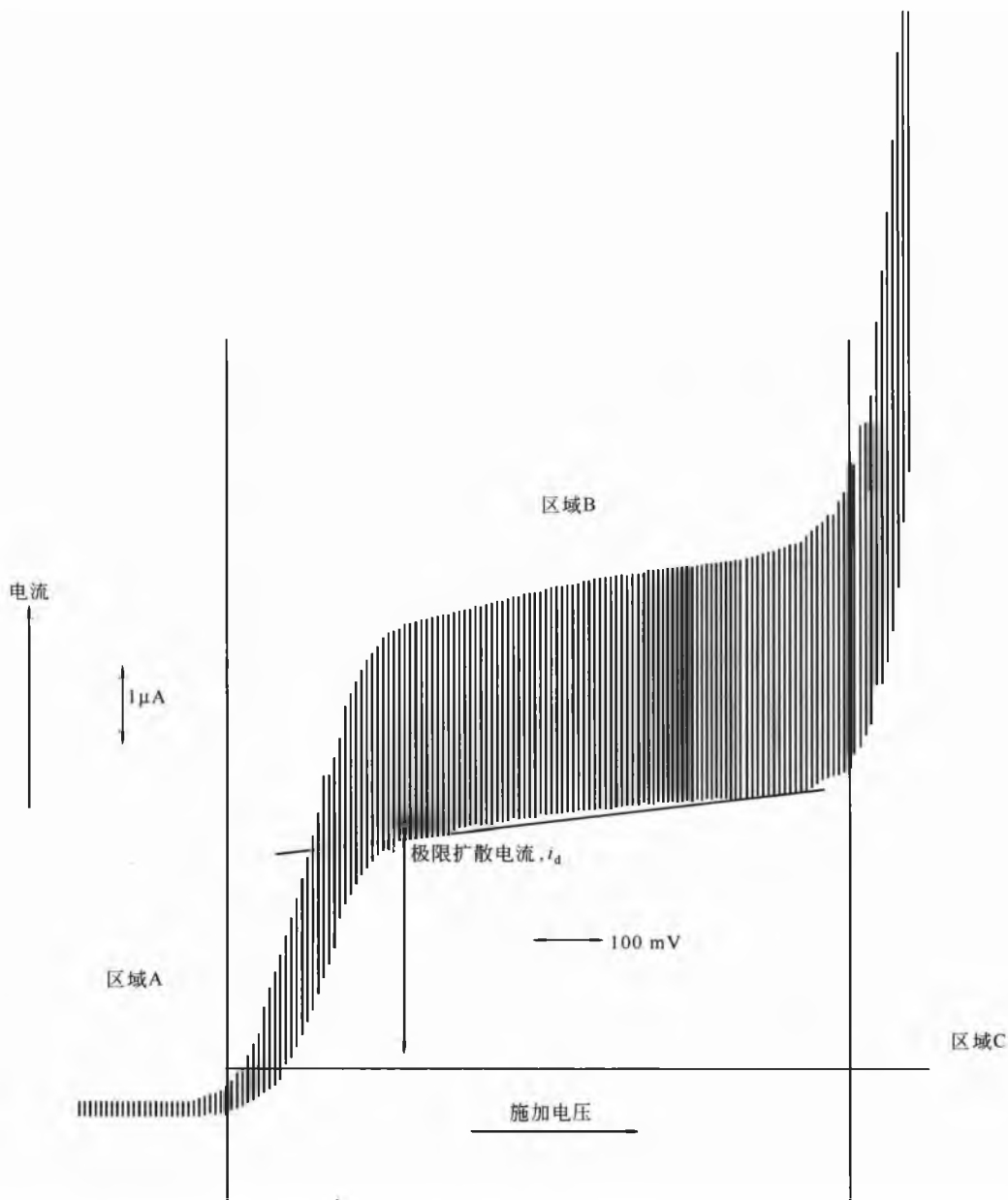


图2 地西洋 (20mg/mL) 以 0.1mol/L 硫酸作为支持电解质的经典直流极谱图。区域 A 是支持电解质引起的背景电流；区域 B 显示呈上升趋势并接近极限值的法拉第电流；区域 C 为截断点，在此点由于氢离子的还原电流急剧增加

### 3. 电极作用机理

极谱波的形状进一步受到发生在汞滴表面电极过程特

性的影响。极谱波可能是可逆的，不可逆的或半可逆的。总的电极作用过程包括扩散、电子转移、电化学反应阶段。可逆电极作用由于快速的电子转移过程，在每一个瞬时的

汞滴周期都是热力学平衡过程。可逆电极作用能形成极好的直流极谱图，扩散控制在任何情况下都是决定因素。不可逆过程反应非常慢，在滴汞周期内很难达到平衡，因而由此得到的极谱图很难有定态。速度控制阶段既可能是电子转移过程又可能是接下来的化学反应过程。而在滴汞电极上的许多有机还原反应是属于介于两者之间的半可逆过程。虽然完全不可逆反应的逆反应速率常数可以忽略不计，但半可逆反应的逆反应速率常数还是有一个中等的数值。一般来说可看到半可逆反应的汞滴形成周期至少为 3s。

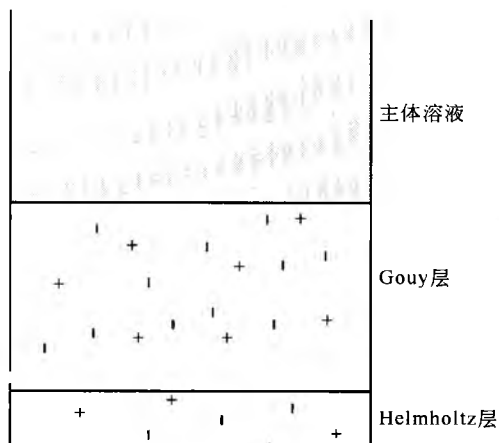


图3 在没有外加电位的情况下，与参比电极短路的汞滴的双电层

采用循环伏安法可以研究电极作用过程的可逆与否<sup>[2]</sup>。通过快速施加三角形的正反斜坡电位 [图 4(a)] 可以与电活性物质及其还原产物反应，对半可逆或完全可逆的过程而言，有可能重新氧化成初始物，形成特定的波形 [图 4(b)]。阳极峰和阴极峰的分离度表明电极过程是半可逆或完全可逆。另外由于电子转移过程可以由控制电位库仑分析法测定，因此可通过计算电子转移过程中每个分子的电子数目来得出其相关机理<sup>[3]</sup>。

#### 4. 极谱法中氧气的影响

在极谱法中，但不是阳极伏安法中，有必要采用一套去除极谱池中电解质溶液中氧气的装置。通常是在电压扫描开始前向溶液中通入无氧氮气 10min。溶液表面就会覆盖一层无氧氮气，避免极谱分析过程中空气中的氧进入溶液。除氧过程非常必要，因为溶解氧有极谱活性，会掩盖特定电位范围被测物的分析信号。

### 现代极谱分析和伏安法

在经典直流极谱法中，实际测量的电流包括极限扩散电流以及其他电流组成。因为存在背景电信号，以及影响更大的电极表面双电层电容的充电电流。经典直流极谱法在很多方面都非常适合电极过程的解释。对现代分析而

言，它灵敏度不够高，很难测量其 S 形电流/电压曲线。现代极谱分析和伏安法 (图 5) 可以解决这些问题，由此产生的分析技术可以提供高的灵敏度和易于解释的电流-电压波形。

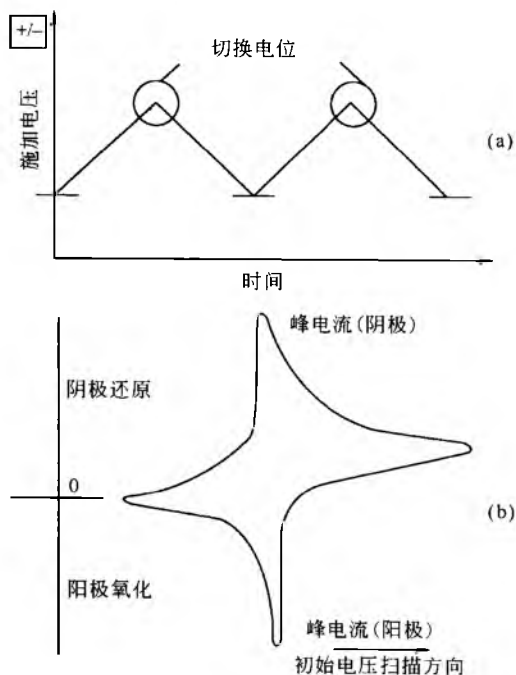


图4 循环伏安法。(a) 电压波形表明快速正反电压扫描；(b) 完全可逆系统中的典型循环伏安图

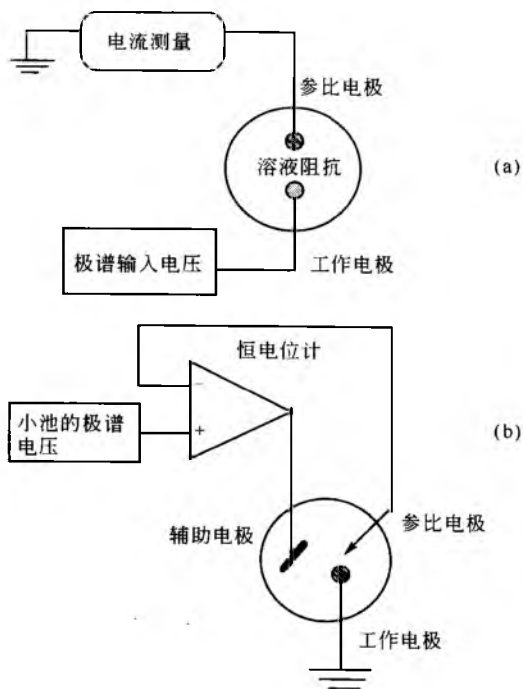
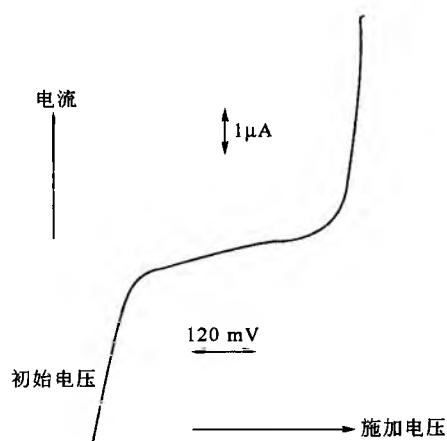


图5 极谱分析和伏安法的电路。(a) 简单两电极系统；(b) 带有稳压装置的现代三电极系统

## 1. 电流取样直流极谱法

电流取样直流极谱法起源于最初接触式极谱法的现代改进方法,用来测定汞滴形成周期的特定时间间隔的极谱电流。该法最初是通过机械接触<sup>[4]</sup>来进行,现在可通过数字形式采用现代仪器测定特定时刻,如接近汞滴形成周期结束前的 20ms 内的电流变化,此时汞滴的面积接近常数。为此,汞滴形成周期采用仪器机械地控制其精密度要优于重力法并为其其他现代分析方法所采用。电流取样直流极谱法通过消除汞滴形成周期的电流变化获得平滑的极谱图(图 6)。正如其他现代伏安法测试中所出现的一样,尽管经典极谱法中的典型锯齿波已经不存在,在电流取样直流极谱图上仍然可以看到细微的梯状结构。由于截取的电流保留在仪器的内存中,并被连续不断地反馈到记录仪上持续到下一个取样周期,因此就产生了阶梯状结构。

电流取样直流极谱法尽管比经典极谱法提高了有限的灵敏度,但其在汞滴形成周期的末期,汞滴几乎静止时,法拉第电流与充电电流之比更好,因此,它真正优于经典极谱法之处在于其能够提供更清晰的极谱图。



## 2. 脉冲极谱法

由经典方法变革形成的脉冲极谱法和伏安法对于常规的定量分析而言是最有用的现代方法。它们不像经典极谱法和电流取样直流极谱法所施加的都是简单的直流斜坡电压,而是更为复杂的在极短时间间隔内周期性施加的电压。尽管目前有许多种脉冲方法,但两种主要的脉冲方法为常规(积分)脉冲和示差脉冲极谱分析/伏安法。脉冲法最大的优点是其更为显著的法拉第电流和充电电流之比,在示差脉冲法中,电流电位图中有更为传统的高斯分布状波形。在脉冲法中,随着脉冲的施加,起始的充电电流在增加,实质是产生了脉冲充电电流。当脉冲位于极谱图/伏安图的上升部分(法拉第电流部分)时,电流就会大量增大,超

过脉冲充电电流值。如果脉冲施加在汞滴形成周期的末期,当滴汞电极的汞滴表面近似常数时,或者使用的是固体电极,那么在脉冲施加的初始点两种电流都会衰减,并为时间的函数。然而在测得的总电流中,充电电流下降得比法拉第电流快。因此,如果在脉冲施加的结束点测定电流(取点),必定主要为法拉第电流,比直流极谱法具有更高的灵敏度。与连续施加电压相比,施加脉冲电压后电极-溶液界面的扩散层更窄,灵敏度更高。因此电活性物质朝电极方向的扩散速率增加,并伴随着扩散电流的增加。

## 3. 常规(积分)脉冲极谱分析/伏安法(NPP/NPV)

在 NPP/NPV<sup>[5]</sup>中,电压以一系列从分析选择的基线电压增长的电压脉冲形式施加(图 7)。在不同脉冲之间,基线电压复位。脉冲幅度根据操作者设定的条件随时间成线性增加。在极谱分析中,电压脉冲施加于汞滴形成周期的末期。尽管不同的仪器有不同的精密计时器,通常脉冲电压施加于汞滴存在的最后 60ms 和电流取样直流极谱法的极谱图/伏安图相同,仅仅记录汞滴存在的最后 20ms 产生的电流,区别在于它有更大的电流产率。NPP/NPV 最大的缺陷在于极谱图的形状,因为操作者倾向于输出的数据以更传统的高斯分布图出现,而 S 形图很难定量。

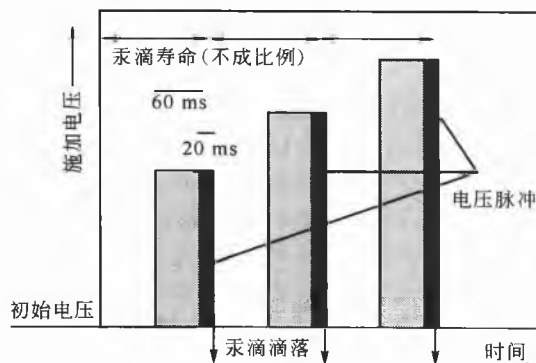


图 7 常规脉冲极谱分析所施加的电压波形

## 4. 示差脉冲极谱分析/伏安法(DPP/DPV)

DPP 和 DPV 可以说是伏安法中最有用的分析方法。DPP 和 DPV 的电流-电压图是典型的峰形式,为分析者熟悉且易于解释。DPP 和 DPV 由所施加的电压决定。在 DPP/DPV 中,在一个慢速线性电压斜坡上叠加了一个固定的位于 5~100mV 的电压脉冲(图 8)。当斜坡电压与法拉第电流过程一致时,就会连续产生法拉第电流和充电电流。在给定时间施加小脉冲电压于斜坡电压上以后,就产生了新的法拉第电流和充电电流。NPP/NPV 极谱分析中施加脉冲后产生的法拉第电流的衰减发生在汞滴形成周期的末期。脉冲造成的充电电流同样会衰减,但是比法拉第电流衰减得更快。因此如果在施加脉冲的末期记录电流,那么



法拉第电流和充电电流的分离最大,灵敏度也最高。事实上,在 DPP/DPV 中电流被记录两次,主要是在脉冲施加前的 20ms 和脉冲施加的最后 20ms。由于施加电压脉冲的细小增加 ( $dE$ ) 引起的电流的细微增加 ( $di$ ) 产生的示差信号被记录下来,进一步减小脉冲前充电电流的影响,较之 NPP/NPV 的灵敏度有进一步的提高。更有利的是,产生的是经典极谱波的导数图 ( $di/dE$ )。该值对施加电压作图时可获峰形输出,施加固定电压脉冲后,法拉第电流的变化在极谱图的最陡处变得最大,在基线和平台区接近零。

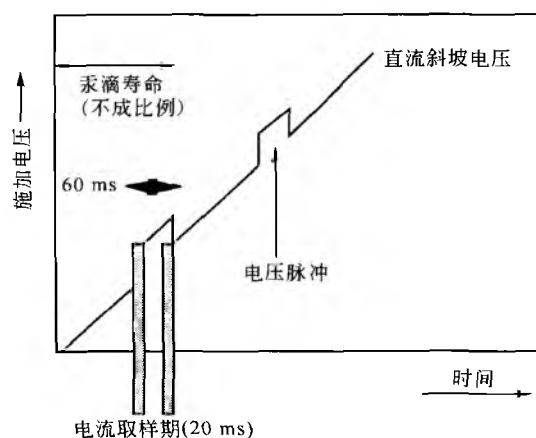


图 8 示差脉冲极谱分析所施加的电压波形

DPP/DPV 的灵敏度比常规脉冲法高了一个数量级,几乎与气相色谱氢离子火焰化检测器的灵敏度相同 (大约  $10^{-8}$  mol/L)。因此可以用来测定复杂生物基底中的药物含量。此外, DPP 和 DPV 有很强的分辨能力,能区分同一溶液中不同电活性物质形成的不超过 50mV 差别的不同的峰。常规脉冲法和示差极谱法也适用于固体工作电极如玻碳电极。尽管制约滴汞电极的影响因素已经去除,但不同仪器的计时仍旧不变。DPP/DPV 的半波电位无法辨别,可以由几乎完全相同的电位  $E_p$  替换。DPP/DPV 的峰电流值 ( $i_p$ ) 可由式 (4) [6] 表达

$$i_p = \frac{n^2 F^2}{RT} \Delta E \cdot A \cdot C \cdot \frac{D}{\sqrt{\pi t}} \cdot \frac{\exp(E - E_{1/2} + 0.5E) \cdot CnF/RT}{\{1 + [\exp(E - E_{1/2} + 0.5E) \cdot nF/RT]\}^2} \quad (4)$$

式中:  $n$  为电极反应中电子转移的数目;  $F$  为法拉第常量;  $R$  为摩尔气体常量;  $T$  为热力学温度;  $\Delta E$  为脉冲的振幅或调制;  $A$  为电极表面积;  $C$  为电活性成分的浓度;  $D$  为电活性成分的扩散系数;  $t$  为从施加脉冲到电流测定的时间延迟;  $E$  为脉冲施加前的斜坡电压;  $E_{1/2}$  为半波电位。式 (4) 表明了 DPP/DPV 中峰电流和峰电位的线性关系,峰电流会随着脉冲振幅的增加而增加。然而放电电流也会随脉冲振幅的增加而增加。因此必须选定一个  $\Delta E$  值以使  $i_p$  值达最大但也不能太大,否则就会损失峰分辨率。 $\Delta E$  的典型值为 50mV 或 100mV。

## 5. 线性扫描伏安法 (LSV)

线性扫描伏安法是在固定电极 (如 HMDE 或玻碳电极) 施加 100mV/s 或更高的电压进行快速电压扫描。该方法是以 Randles-Sevcik 方程 [2, 7] 为理论基础的。在低扫描速率下,通过扩散层的浓度梯度受到穿过该层的电活性物质的消耗速率控制。采用线性扫描伏安法进行快速扫描,扩散层变窄,浓度梯度则更大,产生的扩散电流也就更大。与滴汞电极不同,随着电极表面反应的进行,去极化剂消耗完毕,扩散层增宽至溶液主体中,不同于滴汞电极汞滴滴入溶液产生的搅拌作用使得平衡会周期性地复原。因此扩散电流会逐渐衰减,使得线性扫描伏安法的信号输出类似峰形 (图 9)。LSV 中电压的快速增加导致整个电压扫描过程电极表面的不平衡状况。

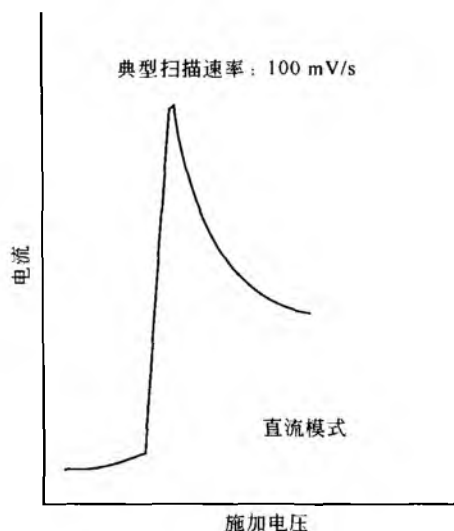


图 9 以 100 mV/s 速率快速扫描的典型线性扫描伏安图

## 6. 交流极谱法/伏安法 (ACP/ACV)

交流极谱法/伏安法包括了多种模式通过周期性施加不同的电压波形,如方波、脉冲、锯齿波进行区分。尽管有些仪器有内置式函数发生器能把交流极谱法/伏安法作为标准技术运行,但常规极谱仪还需电压函数发生器产生这些波形。

常用的交流极谱法/伏安法包括在斜坡电压上叠加一小的正弦交流电压。产生的电流为交流电,可以通过使用相敏电流检测器过滤直流电。由于法拉第电流和充电电流相对于施加的正弦电压分别有  $45^\circ$  和  $90^\circ$  的相角,检测器排除具有  $90^\circ$  相角的成分,仅仅检测法拉第电流。

所施加的正弦波的大小通常为  $\pm 50$  mV,极谱图以斜坡电压对基本谐波交流电 (ac) 作图。由于直流电被滤过,在交流模式下,相应直流极谱图中电流增长前后阶段电流值接近零,因此极谱图具有按直流波上升部位呈峰的形状。类似线性扫描伏安法,快速电压扫描的使用,可以在固体

(固定) 电极上进行交流伏安法。

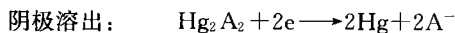
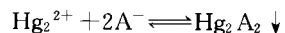
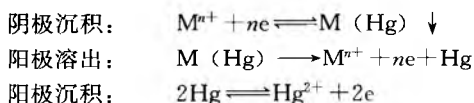
在交流技术中值得一提的是方波伏安法 (SWV)。它比 DPP/DPV 更快速更灵敏。在方波伏安法中, 所施加的电压波形是阶梯状及恒定上升的电压, 在此电压上叠加了振幅不变的上升与下降不对称的脉冲, 周期非常短, 通常不到 10ms。因此要得到完整的极谱图需要 1s 左右的时间, 由于在脉冲的上升和下降的结束之前记录电流值, 方法的灵敏度增强了。

## 7. 溶出伏安法

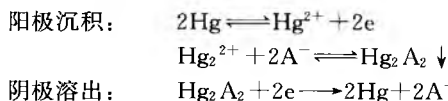
在金属的痕量分析中有一种广泛使用的和在有机物包括药物分析中逐步广泛使用的灵敏度极高的方法。其出众的灵敏度是由于最初的预富集步骤能实现相对整体溶液中被测物浓度增加 1000 倍。溶出伏安法中最通常使用的工作电极为溶出实验过程中悬挂在电极尖端的单个汞滴。这种电极被称为悬汞电极 (HMDE), 尽管其他也有汞膜电极 (MFE), 即在碳电极基质上涂一层薄的汞膜<sup>[8]</sup>, 但静止汞滴电极 (SMDE) 的重要性还是不断增加<sup>[9]</sup>。在沉积阶段中 SMDE 允许比 HMDE 更快的搅拌速率, 后者的限制因素是剧烈搅拌造成的汞滴的消失。除汞以外, 由贵金属 (金或铂) 或碳 (玻碳, 碳糊) 制成的非平板形固体电极都可以用于溶出分析, 尤其用于测定氧化还原电位非常正的不溶于汞的金属。大多数用于药物分析的溶出分析采用汞电极来分析有机物。溶出分析可以采用合适的工作电极通过一般的现代极谱仪来进行。

溶出分析用于药物分析可以分为两步: 首先电活性物质沉积在汞电极上, 亦即被测物从主体溶液中富集到电极上; 这种电解产生的可控沉积在特定的一段时间内在主体溶液受到恒定搅拌的情形下进行, 这样可以尽可能地驱动被测物朝着电极表面有效地运动; 其次为溶出阶段, 该阶段通过施加适宜的电压使被测物从电极表面脱落 (移走), 回到溶液中。第二步为测量步骤, 产生的法拉第电流可以定量地反映主体溶液中被测物的含量。施加的电压既可以是简单的斜坡电压, 也可以为周期性的波形, 而且, 现在大多数的极谱分析模式都可与溶出步骤结合提高灵敏度和选择性。尽管示差脉冲和线性扫描模式仍占统治地位, 但快速溶出步骤如半微分模式<sup>[10]</sup>的用途越来越广。

在溶出伏安法中阳极溶出伏安法 (ASV) 是使用最广的方法, 尤其是对溶液中金属的痕量分析。汞阴极上的电解沉积步骤可能持续数分钟, 接着电压扫描朝向正值转为阳极溶出阶段。沉积阶段造成金属汞齐的形成。对于所有的溶出伏安法, 都必须仔细控制各流体动力学参数 (搅拌速率、沉积时间、溶液组成、电极位置), 各参数应可重现地对主体溶液浓度变化定量地响应。该过程可概括为



阴极溶出伏安法 (CSV) 在电解沉积步骤被认为是 ASV 的相反步骤, 是在阳极施加正电压下进行的, 沉积物在阴极电压扫描下溶出。CSV 用于测定各种阴离子<sup>[11]</sup>及某些药物分子如有机硫类药物<sup>[12]</sup>。阴极溶出伏安法可以归纳为



吸附溶出伏安法 (AdSV) 在药物的痕量测定中正发挥越来越大的作用。该方法的预富集步骤是吸附而不是电解, 会在电极表面形成一层吸附层<sup>[13]</sup>。溶出步骤通常根据需要在阴极或阳极方向采用 LSV 或示差脉冲法。HMDE 通常采用阴极还原溶出, 而碳电极或贵金属电极通常用于吸附模式。

在 AdSV 中影响吸附过程的因素包括溶剂、溶液的 pH、质量传递过程、搅拌速率、沉积时间和施加的电压。采用相同的模式 AdSV 的灵敏度优于传统的极谱分析/伏安法可达 100 倍。AdSV 最大的优势是当被测物的基底非常复杂时, 可以简化样品的制备过程, 如测定体液中的药物及其代谢产物。从复杂的介质中吸附被测物后, 在重新溶出之前, 带有被测物吸附层的电极可以被转移到空白电解质溶液中。这种以介质交换<sup>[14]</sup>著称的分析方法非常有潜力, 尤其是用流动分析<sup>[15]</sup>进行药物分析及临床分析。由于人们更倾向于使用色谱法并对色谱法更为熟悉, AdSV 的价值还没有充分被认知。

## 8. 高效液相色谱用电化学检测器 (ELCD) 和流动注射分析用电化学检测器 (ED-FIA)

药物分析工作者对直接采用极谱分析和伏安法不大熟悉, 但大多数人都会使用高效液相色谱法 (HPLC) 来测定生物体中的药物及其代谢产物或不同药物剂型的降解产物。HPLC 中最常使用的是光谱检测器 (紫外和荧光), 但对于没有适宜发色团的分子或需要增加灵敏度以及有特定需求时, 电化学检测器是一种合适的供选方法。ELCD 可用于任何可在电极上电化学氧化或还原的分子。大多数检测器采用固体电极, 尤其是碳糊电极和玻碳电极。这类检测器最适宜阳极反应, 但也可用于还原过程。另外, 汞膜可以涂在贵金属电极上用于阴极还原。

ELCD 的原理见图 10, Stulik 等<sup>[16]</sup>也作了详细介绍。检测器电极两端施加了足够高的电压, 亦即施加的电压位于极谱波的平台处, 有关的电化学反应就会发生。因此当被测物从色谱柱中流出后, 检测器就会产生法拉第电流, 出现通常所见的色谱信号。由于所测的分析信号是电流, 所以这个例子是安培检测法。若使用的是固体电极, 检测器可以被称为伏安检测器。检测小池的构型各式各样, 最常使用的是壁喷式小池 (图 11), 流出组分喷射到检测池的内壁上。池壁是由高度抛光不渗透的玻碳制成的。流出组

分的喷射确保了电化学氧化反应的产物可以从电极表面去除,从而确保了信号的重现性。

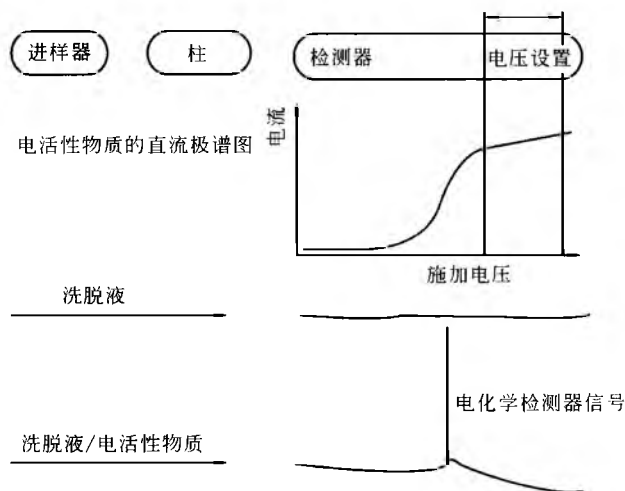


图 10 HPLC 电化学检测器的工作原理

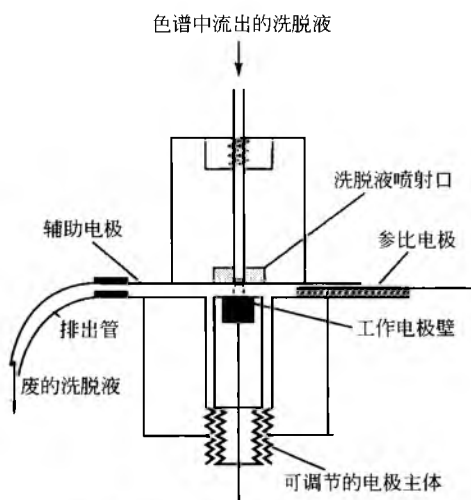


图 11 HPLC 用壁喷式电化学检测器

采用不同的电化学检测池,ELCD可以施加不同的电压波形(图12)。示差脉冲法(图13)尤其适合用作ELCD,因为它能通过选择性地设定混合组分中单个组分的峰电位来进一步增加不同组分的选择性。快速扫描方波检测器还可以得到其他信息。正如其名所描述的,该法通过快速电压扫描来获得三维的数据输出。许多伏安图谱都能给出从色谱柱中流出组分的电流-电压-时间三维图。因此该检测器类似于著名的二极管阵列光电检测器,可以用来检查峰纯度。伏安检测器也可以用于流动注射分析<sup>[17]</sup>,对于药物分析而言可以有效地省掉色谱步骤。同样该法也可使用不同的检测池和不同的极谱-伏安分析模式。

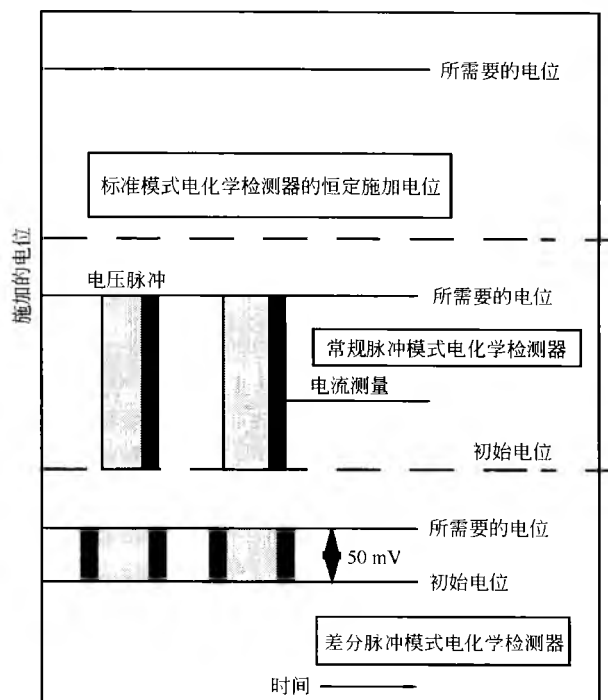


图 12 HPLC 中各种电化学检测器所施加的电压波形

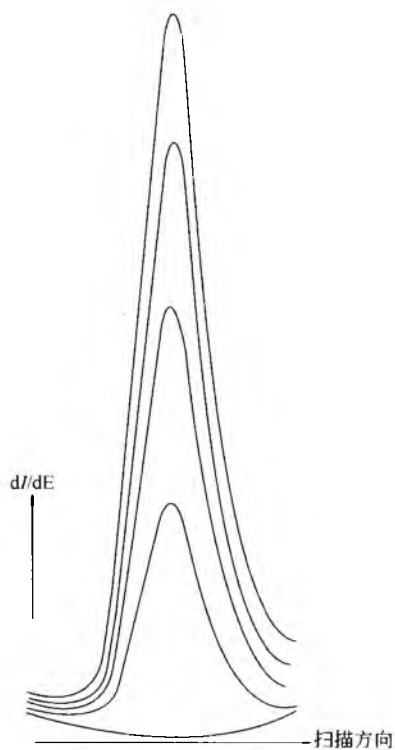


图 13 连续等量 (0.1 mL) 加入维生素 B<sub>6</sub> 盐酸盐溶液 (0.1 mol/L) 至 pH 4 的柠檬酸支持电解质后使用玻碳电极得到的维生素示差脉冲极谱图

# J

## 极谱分析和伏安法在药物分析方面的应用

极谱分析和伏安法在药物分析方面的应用综述本章没有列出(参见相关综述的参考书目)。该方法的应用范围在文献[18~28]中也有说明。

## 结论

各种不同的现代极谱分析-伏安法模式,以及 ELCD 和溶出分析的使用,为药物分析提供了强有力的分析手段。是否采用电分析方法进行测定以及选择何种极谱分析-伏安法取决于被测物的性质、分析本底和所需数据类型。随着分析仪器的进展,极谱分析-伏安法已经得到所有药物分析工作者的信赖。

## 参考文献

- Flato, J. B. Renaissance in Polarographic and Voltammetric Analysis. *Anal. Chem.* 1972, 44, 75a-85a.
- Sevcik, A. Oscillographic Polarography with Periodical Triangular Voltage. *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1948, 13, 349-354.
- Hickling, A. Automatic Control of the Potential of a Working Electrode. *Trans. Faraday Soc.* 1942, 38, 27-33.
- Kronenberger, K.; Strehlow, H.; Elbel, A. W. Intermittent Polarography. *Leybolds Polarogr. Berlin* 1957, 5, 62-77.
- Barker, G. C.; Gardner, A. W. Pulse Polarography. *Z. Anal. Chem.* 1960, 173, 79-83.
- Vire, J. C.; Patriarche, G. J.; *Pharm. Int.* 1981, (May), 119-123.
- Randles, J. E. B. Cathode Ray Polarograph. *Trans. Faraday Soc.* 1948, 44, 322-327.
- Florence, T. M. Anodic Stripping Voltammetry with a Glassy Carbon Electrode Mercury-Plated In Situ. *J. Electroanal. Chem.* 1970, 27, 273-281.
- Peterson, W. R. Static Mercury Drop Electrode. *Am. Lab.* 1979, 12, 69-74.
- Goto, M.; Ikenoya, K.; Kajihara, M.; Ishii, D. Application of Semi-Differential Analysis to Anodic Stripping Voltammetry. *Anal. Chim. Acta* 1978, 101, 131-138.
- Brainina, K. Z. Film Stripping Voltammetry. *Talanta* 1971, 18, 513-539.
- Davidson, I. E.; Smyth, W. F. Cathodic Stripping Voltammetry of Some Sulfur-Containing Organic Compounds in Biological Fluids. *Anal. Chem.* 1977, 49, 1195-1198.
- Wang, J. Adsorptive Stripping Voltammetry. *Int. Lab.* 1985, 15, 68-70.
- Neeb, R.; Kiehnast, I. Z. Effect of Salts on the Anodic Peak Height in Inverse Voltammetry. *Anal. Chem.* 1967, 241, 142-155.
- Wang, J.; Dewald, H. D.; Greene, B. Anodic-Stripping Voltammetry of Heavy-Metals with a Flow-Injection System. *Anal. Chim. Acta* 1983, 146, 45-50.
- Stulik, K.; Pacakova, V. *Electroanalytical Measurements in Flowing Liquids*; Ellis Horwood: Chichester, UK, 1987.
- Tougas, T. P. Recent Developments in Electrochemical Detection for Flow Injection Analysis. *Int. Lab.* 1988, 18, 17-28.
- Smith, W. F.; Ivaska, A. A Study of the Electrochemical Oxidation of Some 1, 4-Benzodiazepines. *Analyst* 1985, 110, 1377-1379.
- Forsman, U. Cathodic Stripping Voltammetric Determination of Trace Amounts of Penicillins. *Anal. Chim. Acta* 1983, 146, 71-86.
- Sithole, B. B.; Guy, R. D. Separation of Nitroimidazoles by Reversed-Phase High-Pressure Liquid Chromatography. *Talanta* 1986, 33, 95-97.
- Wang, J.; Peng, T.; Lin, M. S. Trace Measurements of Tetracyclines Using Adsorptive Stripping Voltammetry. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1986, 15, 147-156.
- Wang, J.; Bonakdar, M.; Morgan, C. Voltammetric Measurement of Tricyclic Antidepressants Following Interfacial Accumulation at Carbon Electrodes. *Anal. Chem.* 1986, 58, 1024-1028.
- Wang, J.; Freiha, B. A.; Deshmukh, B. K. Adsorptive Extractive Stripping Voltammetry of Phenothiazine Compounds at Carbon Paste Electrodes. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1985, 14, 457-467.
- Ballantine, J.; Woolfson, A. D. The Application of Differential Pulse Voltammetry at the Glassy Carbon Electrode to Multivitamin Analysis. *J. Pharm. Pharmacol.* 1980, 32, 353-356.
- Kontoyannis, C. G.; Antimisiaris, S. G.; Douroumis, D. Simultaneous Quantitative Determination of Diazepam and Liposomes Using Differential Pulse Polarography. *Anal. Chim. Acta* 1999, 391, 83-88.
- Zapardiel, A.; Bermejo, E.; Lopez, J.; Hernandez, L.; Gil, E. Electroanalytical Determinations of Halazepam—Study of Interaction with Human, Serum Albumin. *Microchem. J.* 1995, 52, 41-52.
- Fernandez-Marcote, M. S. M.; Mochon, M. C.; Sanchez, J. C. J.; Perez, A. G. Electrochemical Reduction of Prilocaine as Its N-Nitrosamine Derivative At the Mercury Elec-

- trode. *Electroanalysis* 1998, 10, 492—496.
28. Reddy, G. V. S.; Reddy, S. J. Estimation of Cephalosporin Antibiotics by Differential Pulse Polarography. *Talanta* 1997, 44, 627—631.

### 参考书目

- Bersier, P. M.; Bersier, J. Polarographic, Voltammetric, and HPLC-EC of Pharmaceutically Relevant Cyclic Compounds. *Electroanalysis* 1994, 6, 171—191.
- Bond, A. M. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1980.
- Hart, J. P. *Electroanalysis of Biologically Important Compounds*; Ellis Horwood: Chichester, UK, 1990.
- Hoffmann, H.; Volke, J. Polarographic Analysis in Pharmacy. In *Electroanalytical Chemistry*; Nurnberger, H. W., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1974.
- Smyth, W. F. *Polarography of Molecules of Biological Significance*; Academic Press: London, 1979.
- Smyth, W. F.; Woolfson, A. D. Drug Assays; The Role of Modern Voltammetric Techniques. *J. Clin. Pharm. Ther.* 1987, 12, 117—134.
- Wang, J. *Stripping Analysis*; Verlag Chemie: Deerfield Beach, 1985.

(金 蔚 译)

J

## J

## 挤出工艺和挤出设备

J. M. Newton

University of London, London, United Kingdom

## 引言

挤出是指在可控条件下,施加外力使原料通过小孔或模具,形成具有相同形状和相对密度的产品的过程。挤出设备由两个不同的部分组成:输送系统和模具系统。前者输送物料,有时也传递一定程度的可配送的混合物(distributive mixing);后者将物料加工成为所需的形状。广义上讲,挤出可以分为温度控制的熔融挤出系统和半固体黏稠系统。熔融挤出系统通过加热控制物料的黏性,使其流出模具;半固体黏稠系统是指将高比例固体混入液相形成的多相高浓度分散体系,一般根据处方控制半固体物质的黏度从而实现挤出。

挤出是大量生产均一产品的连续工艺,通过使用特别设计的或适用于特定产品的挤出设备,该工艺在广泛的制药工业领域有多种用途。本章介绍了多种挤出设备,并详细说明了挤出工艺的多样性。

## 挤出理论和特征

各种不同类型的挤出设备有一个共同的特征:施加压力使原本横截面较宽的物料通过起限制作用的模具挤出。挤出过程需要的压力和得到的挤出物的性质,取决于挤出物的流变性、模具的设计和物料挤出的速度。为了便于从理论上理解,我们把挤出过程分为三部分:①物料进入模具;②物料流经模具;③物料从模具中挤出。

挤出过程取决于物料,物料不同,技术也各异。药剂中大多数系统由粒子分散在液相中构成。本章介绍的重点为膏状物挤压,也会涉及塑性挤出。二者的不同之处在于固体粒子之间是否有流体存在。在挤出过程的不同阶段,固态和液态的相对位置可以发生转变,因此产生的影响与单相体系不同。

如果将模具看做是简单的毛细管,那么切变速率( $\dot{\gamma}$ )和模壁切应力 $\tau_w$ 之间的关系可以用式(1)表示:

$$\tau_w = \gamma P \cdot R/2L \quad (1)$$

式中: $P$ 为半径为 $R$ 、长度为 $L$ 的毛细管两端的压差。毛细管长度增加时,必须考虑入口效应,对式(1)进行修正,得式(2):

$$\tau_w = \gamma P/2(L/R + n_b) \quad (2)$$

式中: $n_b$ 为Bagley入口修正因子<sup>[1]</sup>,通过测定,将物料通过不同 $L/R$ 值的模具挤出所需的压力作图,外推曲线至压力为0,得到曲线在 $L/R$ 轴上的截距值即为 $n_b$ <sup>[1]</sup>。

Han和Charles<sup>[2]</sup>在实验中发现出口压力往往高于大气

压,并就出口压力损耗对式(2)进行了修正,得到式(3):

$$\tau_w = (\gamma P - P_e)/2(L/R + n_b) \quad (3)$$

出口压力 $P_e$ 难以测定。因为 $P_e$ 往往低于上游压耗和模具压耗,所以经常被忽略。上游压耗值可以很大,可以通过 $L/R$ 值为0时在压力轴上的截距确定(Bagley方程),得到式(4)和式(5):

$$\tau_w = (P_T - P_0)R/2L \quad (4)$$

$$P_T = P_0 + 2\tau_w(L/R + n_b) \quad (5)$$

上游压耗是由动能、头部效应、弹性损失和湍流造成的压耗的总和。Harrison<sup>[3]</sup>发现一系列药剂系统的 $P_0$ 值随通过模具速率的增加而增加。

## 流变学曲线

式(5)不仅可以用来计算上游压耗和末端校正 $n_b$ 值,还可用于计算体系中的切应力 $\tau_w$ 。 $P_T$ - $L/R$ 曲线的斜率 $2\tau_w$ ,即模-壁的切应力。模壁的切变率 $(dv/dr)_w$ 可由Hagen-Poiseuille定律而得,如式(6)所示:

$$(dv/dr)_w = 4Q/R^3 \quad (6)$$

式中: $Q$ 为流量; $R$ 为模具半径。该公式适用于牛顿流体。对于非牛顿流体,Jastrzebski<sup>[4]</sup>对切变率进行了校正,得到式(7):

$$-(dv/dr)_w = \frac{3n' + 1}{n'} \frac{Q}{\pi R^3} \quad (7)$$

式中: $n'$ 为非牛顿流体程度,是切应力对数对表观切变率对数作图所得直线的斜率。Wilkinson<sup>[5]</sup>指出这些公式成立的前提是:①层流;②模具壁没有滑动;③切变率只取决于测量时的切应力,与时间无关。

通过柱塞式挤出机确定切应力-切变率曲线,再根据曲线的基本类型,就能够确定挤出原料的流变学性质,见式(8)~式(11):

对于牛顿流体:

$$\sigma_w = \gamma' \eta \quad (8)$$

式中: $\eta$ 为表观黏度; $\gamma'$ 为切变率。

对于宾汉体(Bingham body):

$$\tau_w = \sigma_y + \gamma' U \quad (9)$$

式中: $\sigma_y$ 为牛顿流体开始流动前必须克服的压力,即屈服值; $U$ 为塑性黏度。

幂律模型为

$$\tau_w = K \gamma'^{n'} \quad (10)$$

式中: $K$ 为幂律流体黏度常数; $n'$ 是非牛顿流体程度。如果 $n'$ 值小于1,切变率增加,物料黏度降低(切变稀化);如果 $n'$ 值大于1,切变率增加,黏度增大(切变增厚)。

赫-巴模式 (Herschel-Buckley model) 为

$$\tau_w = \tau_y + K\dot{\gamma}^n \quad (11)$$

该公式适用于屈服值和切变率依赖于黏度的体系。

上述流动曲线应用的前提是：挤出过程中，匀质物料的黏度保持均匀不变。Harrison 等<sup>[6]</sup>及其同事发现这个前提并不成立，认为这是由挤出物内部的活塞式流动和模具壁上的滑动流造成的。

标准的流变学模型不能定量地描述流体进入、通过和流出模具的过程。通过对陶瓷催化糊剂的研究，Benbow 和 Ovenston<sup>[7,8]</sup>提出了新的模型，他们假设挤出物的中心存在较宽的活塞式流动，而在模具壁上的一个薄层内发生了剪切，假设这个薄层为牛顿流体，厚度为  $x$ ，黏度为  $\eta$ ，诱发流动的初始切应力为  $\tau_0$ ，当挤出物流速为  $V$  时，由式 (12) 可得，总的模壁切应力为  $\tau_w$ ：

$$\tau_w = \tau_0 + (\eta/x)V \quad (12)$$

$\eta$  和  $x$  值不能直接测得，因此 Benbow 等引入了模具黏性因子  $\beta$ ， $\beta = \eta/x$ ，得式 (13)：

$$\tau_w = \tau_0 + \beta V \quad (13)$$

将  $\tau_w$  引入式 (4)，得

$$P_r = P_0 + 2(L/R)(\tau_0 + \beta V) \quad (14)$$

当挤出物通过模具（毛细管长度恒定为  $L$ ）时，将挤出压力对挤出速率  $V$  作图，即得  $\tau_0$  值。 $V=0$  时外推的挤出压力值即速度为 0 时的  $P_{0V0}$ ，见式 (15)：

$$P_{rV0} = P_{0V0} + 2(L/R)\tau_0 \quad (15)$$

因此将  $P_{rV0}$  对  $L/R$  作图，斜率的一半即为  $\tau_0$ 。将式 (14) 变形为式 (16)，由此可以计算  $\beta$  值：

$$\beta = (P_{rw} - P_{0w}) - (P_{rV0} - P_{0V0})2(L/R)V \quad (16)$$

式中： $P_{rw}$  为挤出速率为  $V$  时的总挤出压力； $P_{0w}$  为挤出速率为  $V$  时的上游压耗。

物料流动初始横截面较宽，而到达模具时横截面变窄，形成了会聚性的流动，Benbow 和 Bridgwater<sup>[8,10]</sup>提出了与之相关的屈服值  $\sigma_y$ ，进一步定义该系统的性质，见式 (17)：

$$P_0 = \sigma_y \ln(A_0/A) \quad (17)$$

式中： $A_0$  为起始横截面面积； $A$  为模具横截面面积。如果起始和最终横截面均为圆形，可得式 (18)：

$$P_0 = 2\sigma_y \ln(D_0/D) \quad (18)$$

式中： $D_0$  和  $D$  分别为桶身和模具的直径。对于易塑性变形并且对时间没有依赖性的物料，将压力  $P$  对  $L/R$  作图，所得压力轴截距除以 2 倍的  $\ln(D_0/D)$ ，即得  $\sigma_y$  值。

Benbow 和 Bridgwater<sup>[9,10]</sup>将这种概念与上面提到的公式相结合，对 Bagley 公式进行进一步的修正，得式 (19)：

$$P_r = 2(\sigma_y + \alpha V) \ln(D_0/D) + 2(L/R)(\tau_0 + \beta V) \quad (19)$$

如果模具黏性因子  $\beta$  随挤出速率而改变，或者模具壁液层是非牛顿流体，应对式 (19) 进行校正，得式 (20)：

$$P_r = 2\sigma_y \ln(D_0/D) + 2(L/R)(\tau_0 + \beta^* V^{1-n}) \quad (20)$$

式中： $\beta^*$  为修正的幂律流体常数； $n$  为非牛顿流体程度。Benbow 和 Bridgwater<sup>[9,10]</sup>假设进入模具的速度也取决于流体速度，用两个经验常数（进入模具的初始屈服值  $\sigma_{y0}$  和进

入模具的屈服应力速度系数  $\alpha$ ）代替屈服值  $\sigma_y$ ，对式 (18) 进行替换，得式 (21)：

$$P_0 = 2(\sigma_{y0} + \alpha V) \ln(D_0/D) \quad (21)$$

式 (22) 是完全校正的 Bagley 方程：

$$P_r = 2(\sigma_{y0} + \alpha V) \ln(D_0/D) + 2(L/R)(\tau_0 + \beta V) \quad (22)$$

将速度为 0 时的  $P_{0V0}$  对  $L/R$  作图，截距值即为  $\sigma_{y0}$ 。对于给定的体系， $\alpha$  值可由式 (23) 计算而得：

$$\alpha = (P_{0w} - P_{V0})/[2\ln(D_0/D)V] \quad (23)$$

其中  $P_{0w}$  和  $P_{V0}$  可以通过前面的公式得到。

如果不把体系当作糊剂（挤出过程中没有液体流动的均一体系），而当作聚合物的熔融体，可以对湿料做进一步的表征<sup>[11]</sup>。Cogswell<sup>[12]</sup>认为熔融体通过毛细管流变计的流动属于拉伸流动，流路先会聚再加速。Cogswell 将流场分为切应力和张应力，并用下列方程描述计算结果：

$$TS = \frac{3}{8}(n+1)P_0 \quad (24)$$

式中： $TS$  为张应力； $n$  为幂律指数； $P_0$  为模具入口压降。

$$ESR = \frac{4\pi\gamma}{3(n+1)} = \frac{\gamma}{2} \tan\theta \quad (25)$$

式中： $ESR$  为拉伸应变速率； $\tau$  为模壁切应力； $\gamma$  为切应边速率； $\theta$  为半集中角。

$$EV = \frac{TS}{ESR} \quad (26)$$

式中： $EV$  为表观拉伸流动黏度。

这种方法适用于幂律流体模型 [即式 (10)]，该流动方式不受壁滑动的影响。

物料除了能够进行拉伸流动外，还具有弹性。可恢复剪切 ( $RS$ ) 和依从性 ( $C$ ) 用于弹性的量化<sup>[13,14]</sup>。 $RS$  和  $C$  可以由下面的公式得到：

$$RS = \frac{P}{4\pi} \quad (27)$$

以及

$$C = \frac{P}{4\tau^2} \quad (28)$$

Chohan<sup>[14]</sup>利用上述理论来研究分支聚乙烯熔融体的流动。尽管在伸展速率较高的情况下，这些术语精确的含义还不清楚，但毫无疑问它们与物料的弹性有关。这些值越高，物料的弹性越大。

## 流变学性质的测定

挤压力和挤出速度的测定能力是理论研究应用的基础，大多数市售的挤出设备不能进行上述测量。杯锤流变计和锥板流变计等常用的流变学装置不具备相应的几何形态和仪器化，因此不能用于测量常用黏稠度的材料。于是在实验中设计了合适的柱塞式挤出机。

柱塞式挤出机是由 Benbow 和 Ovenston<sup>[7]</sup>设计的，它是一种预灌封系统，能用于实验室和小规模挤出（图 1）。该装置有一个内径 2.54cm、长度大约 20cm 的不锈钢筒作为物料的储库，底部是个可互换的模具，模具中心用螺丝

## J

固定不同半径的毛细管。筒身和模具之间放置了橡皮圈用于防水。不锈钢的活塞可以在筒内自由滑动，在活塞的底部有一个聚四氟乙烯树脂圈，可以产生低摩擦力的密封，用以防止活塞沿筒壁下滑时，物料被挤到活塞上方。挤出是一个非连续的操作过程，首先将物料（50~100g）放入筒内，用活塞初步压成塞状。如果挤出物料对温度敏感，就在筒外加一个温度控制装置控温。筒和模具都被固定在坚固的金属块上，在活塞上施加足够的外力使物料通过模具挤出。柱塞式挤出机可以和仪器化的压力机联合使用。活塞与能以不同的速度恒速下降的直角机头相连，与之相连的位移传感器可以监测其位移的变化情况。位移传感器和测压元件的输出信号被输出到  $x-y$  图表记录仪或计算机中。这种排列方式便于在挤出时，将作用在物料上的外力以活塞位移函数的形式记录下来，同时也得到了外力-位移曲线。

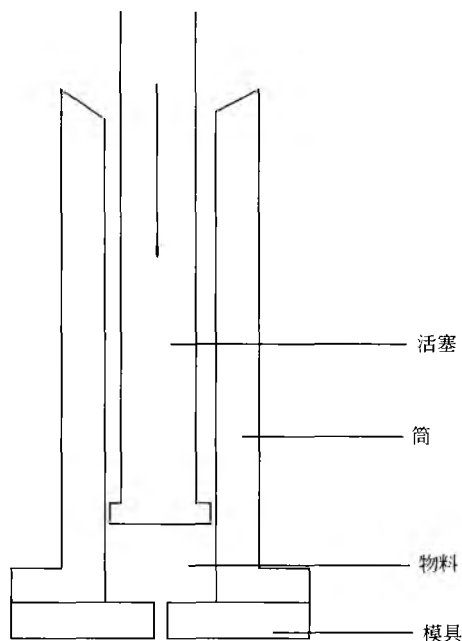


图1 柱塞式挤出机示意图

典型的混合物挤压过程可分为3个不同的阶段，如图2所示，在压缩阶段，活塞下降深入筒中并且在流动之前把物料压成塞状。在该过程中，活塞位置发生了较大的变化，压力也有了轻微的改变。最终，物料被压缩到体积最小、相对密度最大的状态。这时物料相对密度几乎不变，而压力累积递增。相应的在曲线上可以观察到：伴随着外力的大幅度增加，位移只发生了轻微的改变。在压缩末期，对物料施加的压力一直增加，直至使物料开始流动。随后是稳态流阶段，在该阶段，随着位移的增加，挤出力大小不变。当稳态流不能维持时，出现了强制流动，这导致随位移的增加，挤出力慢慢增大。通常在挤出的最后阶段，由于活塞顶端接近模具表面而容易发生上述现象。

如果模具直径、 $L/R$  值或挤出速度等挤出参数中的任

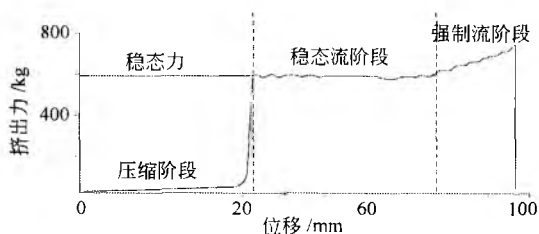
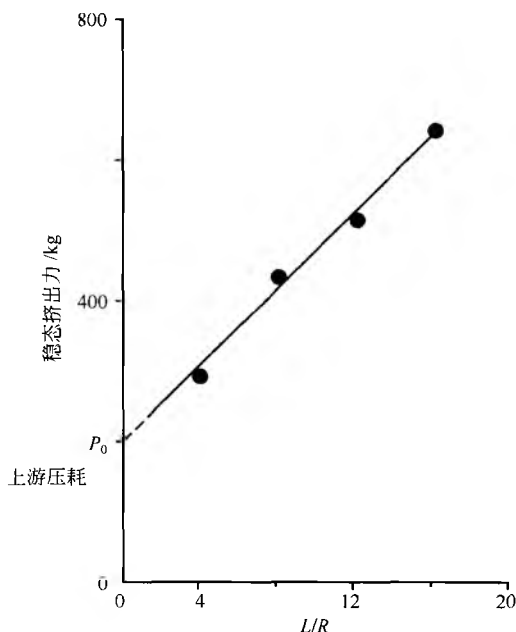


图2 微晶纤维素-乳糖-水混合物的外力-位移曲线

何一个发生变化，那么压力-位移曲线就会改变。对于给定的混合物，如果模具直径和挤出速度固定，那么稳态挤出力与模具  $L/R$  值之间的关系可以用图3表示。这就是已知的 Bagley 曲线<sup>[1]</sup>。由此看来，挤出机的原理和毛细管流体的原理是一致的。从毛细管流体得到的公式也可以用于描述湿粉末的性质。将稳态力值转换为压力值后，压力对  $L/R$  的斜率近似约为模壁剪切力平均值的两倍〔由式（4）得〕。将这些值对相应的模壁剪切速率〔由式（6）得〕作图，得到了特定的湿物料处方所特有的流动曲线（图4）。这些物料具有非牛顿流体和剪切稀化的性质。

图3 微晶纤维素-乳糖-水 (5:5:6) 在恒定模具直径 (1.5mm) 和挤出速率 (20cm/min) 下，稳态挤出力与模具  $L/R$  的关系

## 挤出系统的实际性质

用数值来表示药物体系的挤出性质有助于处方设计。如果要将上述理论应用于实际，就必须考虑系统的限制因素。糊剂体系存在一个比较突出的问题：在受力情况下会产生相分离，从而导致挤出颗粒的成分发生变化。这种相



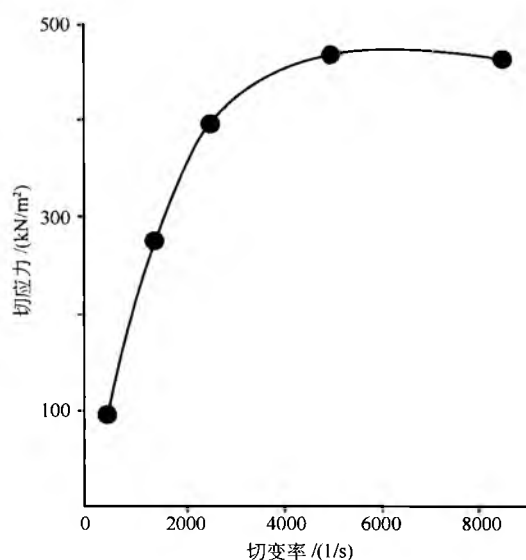


图4 含有50%微晶纤维素的挤出物料通过1.5mm直径模具挤出时典型的切应力-切变率曲线

分离可以通过收集挤出物并测定其含水量来确定<sup>[15,16]</sup>, 或者也可以用核磁共振成像术来测定筒内和挤出物中的含水量<sup>[18]</sup>。

可以使用不同长度和直径的模具来衡量模具壁滑动的程度。挤出物表面结构的质量是一个很重要的参数。Harrison等证明, 表面结构可以从光滑整齐到粗糙的鲨鱼皮样变化<sup>[19]</sup>。很明显, 如果要生产优良的挤出物, 就必须避免鲨鱼皮现象。表面缺陷的形成与物料的组成和操作条件(比如模具长度和直径以及挤出速度)有关(图5)。Raines等<sup>[20]</sup>研究了挤出物的表面质量与0黏度屈服值 $\delta_{y0}$ 的关系, 发现 $\delta_{y0}$ 数值越高, 表面越光滑规则; 数值低时出现鲨鱼皮样。

大多数研究过的糊剂体系呈现非牛顿流体的行为, 这对于挤出机的设计和操作条件有重要的影响, 因为对于依赖于切变速率的原料需要小心操作。迄今为止, 大部分发表的流变学研究表明, 糊剂体系是剪切稀化的(即它们的黏度随切变率增大而减小)(图4)。这种性质可以通过 $n'$ 值(切变速率对数和切应力对数的曲线斜率)进行定量。有证据表明, 当在产生切应力的模具壁上有一个薄的润湿层时<sup>[21]</sup>, 糊剂体系呈活塞式流动(即挤出物的中央核进行匀速运动)。

## 处方

在挤出过程中, 挤出混合物形成具有黏性的塑性物块, 并保持均质性。这种物料须具有内在的流动性, 在通过模具时能够流动并且可以进行自润滑。挤出后的物质不能粘连, 要保持一定的刚性, 只有这样才能保持通过模具得到的形状。随后的工艺决定了对处方的精确度的要求。挤出物被切成短的圆柱形颗粒后, 再经流化床干燥的粒料牢固

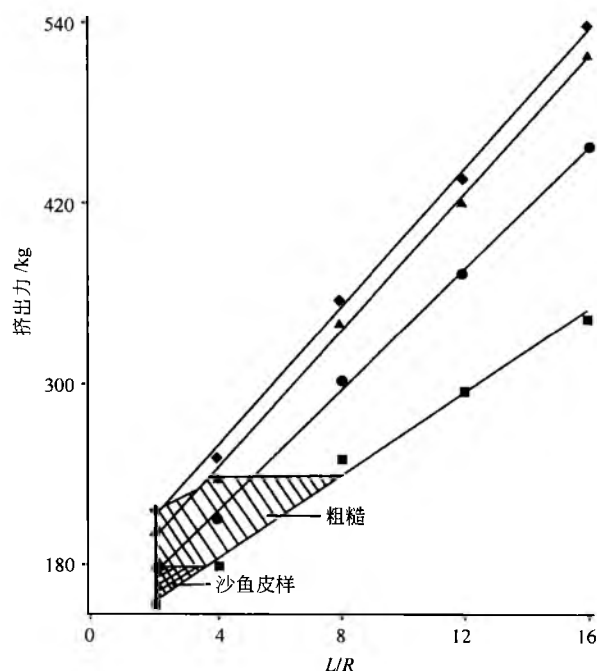


图5 挤出力与L/R值的关系图, 显示挤出微晶纤维素-乳糖-水(5:5:6)时发生表面缺陷的条件。模具直径=1.5mm; 柱塞速度(cm/min): ■5; ●10; ▲20; ◆40

度可以比再经滚圆等复杂工艺处理的粒料的牢固度小, 而后者会有轻微的形状改变。

圆柱形挤出物进行滚圆所需具备的条件有:

(1) 挤出物在湿的时候具有足够的机械强度, 而在滚圆机内应有一定的脆度, 便于加工成较短的长度, 但也不能脆到完全破碎的程度。为了获得较窄的粒度分布, 理想上挤出物应加工成有统一长度的圆柱体, 长度大约为直径的1.5倍<sup>[22]</sup>。

(2) 挤出物必须有足够的塑性, 以确保圆柱体可以在滚圆机中因摩擦而生成球形。

(3) 挤出物本身没有黏性, 以确保在操作过程中, 颗粒分散良好。

典型的挤出混合物应该包括以下成分:

主药 50%~90%

挤出辅料

微晶纤维素, 皂土 5%~90%

黏合剂

聚乙烯吡咯酮(PVP)

羧甲基纤维素钠(SCMC)

羟丙基甲基纤维素(HPMC)

液体

水或溶剂

挤出工艺的优点是最终产品中活性成分的比例可以很高, 甚至可达90%。药物的理化性质也在很大程度上决定了某一处方所能包含药物的最大量, 挤出辅料很重要, 通常使用微晶纤维素<sup>[23]</sup>, 它具有双重作用: 在挤出过程中控

## J

制水在湿粉末中的运动；调节混合物中其他组分的流变学性质，并使混合物呈现一定的塑性以便挤出。这种和液相的相互作用既是物理现象，也是化学现象。微晶纤维素的微观结构是随机聚集的纤维状微晶，内部孔隙率很高，表面积很大，为  $130\sim 270\text{m}^2/\text{g}$ <sup>[24]</sup>。这种结构使微晶纤维素有高度的吸附性和保湿性，且不受挤出过程影响。这些基本性质使微晶纤维素成为用于挤出的独特材料，皂土和高岭土也可使用。5%~10%的辅料可以明显改善药物含量较高的混合物的挤出性质。最近一些研究表明<sup>[25]</sup>，加入单硬脂酸甘油酯可以减少微晶纤维素的用量。

附加成分可能是必需的，也可能不是必需的。当微晶纤维素含量较低时，使用黏合剂可以增加塑性，降低挤出物脆性。天然的或合成的聚合物，如明胶、PVP 和 SCMC，可以以固体形式加入到干燥的混合物中，也可以以液态加入到溶液中。市场上已经出现了掺入聚合物的微晶纤维素辅料，如含有 SCMC 的 Avicel RC、Avicel CL 等级的微晶纤维素（FMC 公司）。微晶纤维素类型的改变，将显著改变混合物的流变学特性和挤出特性<sup>[20]</sup>。含不同粒径的微晶纤维素和不同量 SCMC 的微晶纤维素-乳糖-水（5:5:6）混合物的切应力-切变速率曲线是明显不同的。湿的团块中加入聚合物后，混合物的流变学性质会发生明显的改变。认识到这点对于选择处方很有帮助，因为在后续的剪切、滚圆和干燥工艺中，含不同微晶纤维素混合物的挤出物表现出明显的不同。

干组分的混合物要和水或者乙醇类的溶剂混合，才能形成黏稠的适宜挤出的团块<sup>[26]</sup>。湿料中的含液量和液体分布非常重要，必须严格控制才能形成具有理想性质的挤出物。总之，湿润混合物旨在尽可能提高物料密度，以便通过

挤出机挤出，它比常规压片制粒的湿润程度高 20%~30%（w/w）。松散且润湿不完全的物料进料比较困难，并且在机器内易产生额外的压力和摩擦力，在滚圆过程中，容易产生大量的细粉，由于干的挤出物塑性不足，会形成不易滚圆的哑铃状或椭圆的颗粒。另外，若混合物太湿，则容易粘连在滚圆机板上，也容易发生自身粘连。这种产品易发生不受控的聚集，即使在最佳情况下，由于物料通过板运动在颗粒间传递，也会形成粒径分布较大的球形颗粒。

到目前为止，通过这一方法制备不同药物的可操作性还没有全部确立起来。将 pK<sub>a</sub> 和冰点降低，或用滚圆等级的微晶纤维素<sup>[27]</sup> 生产大小均一的小球的能力联系起来是不可能的。但是已经确立了含等量的模型药物和微晶纤维素的处方的水溶性和需水量的关系<sup>[28]</sup>。

## 工业应用

### 1. 塑料

挤出技术广泛应用于塑料和橡胶工业，是最重要的生产工序之一。由聚合物挤出工艺制造的产品包括管道、软管、绝缘导线、电缆、塑料、橡胶布、聚苯乙烯砖等。最常见的挤出设备是单螺杆挤出机（图 6），具有冷或热的进料区，在加工之前加热聚合物。挤出设备由一个装在固定圆筒内的旋转螺杆组成。圆筒是由不同的几部分通过螺栓连接在一起的。筒的内表面通常有凹槽，以减少滑动，增加抽气容量。模具的端板与筒身末端相连，决定了挤出物的形状。

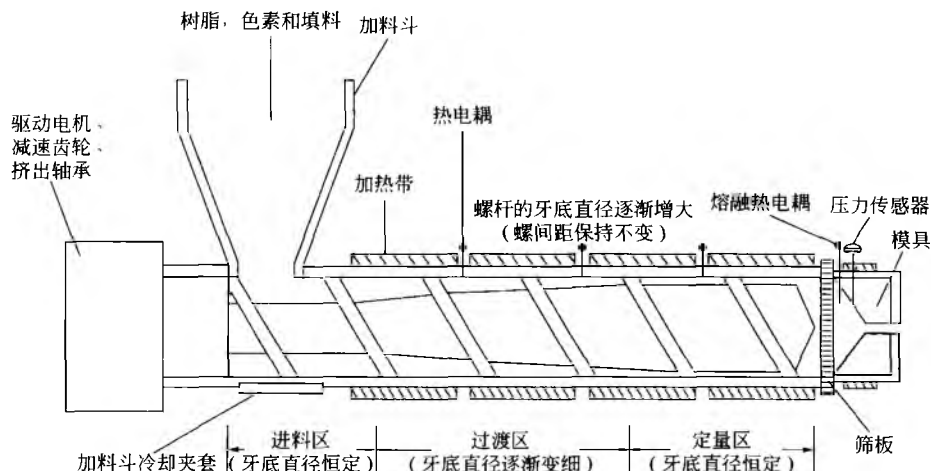


图 6 单螺杆挤出机的组成

挤出设备通常可以分成三个部分：进料区、过渡区和定量区。树脂颗粒从加料斗直接进入进料区，进料区的螺纹很深，或螺距较大。这种几何构造使得加入的物料能够轻易地落到螺杆沿筒转运。颗粒被传送到过渡区，并在过

渡区进行混合、压缩、熔化、增塑。压缩是通过保持螺纹深度恒定减少螺距，或者保持螺距减少螺纹深度进行的<sup>[29]</sup>。这两种方法都能引起物料沿圆筒运动时的压力增大。当树脂颗粒在转动的螺杆和筒壁之间剪切时，大部分

物料熔化所需要的能量都由摩擦生热提供,其余的热量可以由安装在桶上的电热装置提供。熔融体通过螺旋的循环流动而移动,包括横向流动、拖拉式流动、压迫式流动以及泄漏。后两种流动机制与原料沿筒运动相反。原料到达定量区时已经是均一塑性的适于挤出的熔融体。为了产生均匀厚度的挤出物,物料必须恒速流动,并且在模具入口处不能有停滞区。定量区的功能是减少脉动性流动,并确保熔融体以均匀的传送速度穿过模具孔。有时需要在挤出机与模具板之间安装一个滤板,以去除一些固体杂质以及没有完全熔融的树脂块。

有些黏弹性和熔融黏度范围较大的聚合物不能用单螺旋挤出机加工。因此对商用的挤出设备的设计进行了一定的调整,提供螺杆或者是其他可互换的部件,来改变进料区、过渡区以及定量区的构造,以适应实际需要。例如把标准的挤出机改造成高切应力或者高输出的挤出机。改造后的螺杆的设计使得挤出机除了能够用于挤出外,还能起到混合的作用,可以将原料染色或混合。Whelan 和 Dunning<sup>[30]</sup>对现有的多种螺杆、模具设计以及对热塑性挤出的实际问题进行了综述。在挤出过程中,要对影响聚合物挤出的不同的参数进行密切的监控,包括黏性、黏性随剪切速度和温度不同而发生的变化、弹性、拉伸流动以及原料在热金属表面的滑动。前面的“挤出理论和性质”部分中已经阐述了流体公式。近来在挤出机的设计和操作方面取得了一些进展,这使得能对操作过程以及一些控制参数进行监控,比如挤出机、机头以及模具的温度,挤出机与模具的压力,筒壁厚度及尺寸,牵引速度以及挤出速度、能量消耗等。

上面描述的过程是面或线式挤出,挤出形状由模具来决定。挤出面水平地进入剪切设备,以控制挤出物的长度。然后用喷雾或者浸入水中的方式冷却到固态,并通过牵引机。最后,剪切成适当的长度或绕线圈。下游的辅助设备,如处理挤出物流动的牵引设备、收集连续管道或面的绕线圈设备、修剪机和冷却机、在线监控管道直径和厚度的系统等,和挤出机一样重要<sup>[30,31]</sup>。管道和其他的固态截面都可以由面挤出来加工。面挤出也可以进一步加工,比如薄膜挤出、吹塑成形或者射出成形<sup>[32]</sup>。

### 1.1 薄膜挤出

聚合物熔融体通过有狭长切口的模具挤出至高度抛光的冷滚筒上,形成薄膜,即流延薄膜。塑料包状薄膜还可以通过吹塑成形制成,管式薄膜是将熔融体垂直地通过有环形裂缝的模具而形成。向挤出的管状物中吹入空气,使之膨胀塑成一个较大的圆柱体。空气流直接吹在其外表面进行冷却,收卷前通过一对滚筒间,使其破裂。流延薄膜的光学性质通常比吹塑成形的薄膜好,但是机械强度弱于后者。流延薄膜通常需要额外的费用进行边缘修整。

### 1.2 吹塑成形

首先将塑料加热达到熔化或者黏稠的状态,一部分熔融的聚合物管(型坯)通过模具头挤出进入一个敞开的模

子,模子包住型坯并封闭其一端。向管道的开放端通入压缩空气,使黏性的塑料扩展直至布满模子腔壁,这样就形成了模子的形状。熔融体在空腔内冷却固化后,打开模子取出成形的产品。这项技术可应用于瓶子、玩具和较大容器的生产。

### 1.3 射出成形

在高压下熔融的塑料被挤入模具的空腔。冷却固化后,打开模具,将成形的产品取出。通过这种技术可以得到很多相对复杂的形状,如为电子、电信或者是钟表制造业提供一些复杂且坚硬的组件。

可以通过挤出生产的塑料包括丙烯酸酯类(聚甲基丙烯酸酯和聚丙烯酸酯)和丙烯腈的共聚物、纤维素(醋酸纤维素、丙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素)、聚乙烯(低或高密度)、聚丙烯、聚苯乙烯、乙酸乙烯塑料、聚碳酸酯,以及尼龙。Whelan 和 Dunning<sup>[30]</sup>对挤出用原料和挤出物的性质做了总结。在挤出过程中可以加入一些添加剂调节和改善挤出物的性质,如加入润滑剂或防滑剂用于协助挤出、加入增塑剂可达到适当的柔软度和弹性、加入稳定剂和抗氧化剂延迟或者防止降解,另外还可以添加染料和色素。

## 2. 食品

理论上讲,任何一种可以做成糊的食品都可以用挤出的方式加工。早在 18 世纪 30 年代,食品挤出技术已经应用于面食的生产。现代设备和加工技术已经能够加工各种各样形状和大小的复杂产品。将谷类、含油的种子或蛋白质等原材料,与糖类和水混合,能够加工成多种产品,比如肉的替代品、宠物粮以及各种零食小吃。现在有一种广泛使用的多功能技术,结合了烹饪和挤出于一体的所谓的挤出压烹饪机<sup>[34]</sup>,将会用于生产一系列新奇特别的产品,比如早餐谷类(膨化定形的谷类食物)、定形的填充小吃、蛋白质强化产品或者是预煮面制品,还有方便食品中的预煮肉丝。这个工艺非常经济,一步就可以完成食品的混合、高温短时的烹饪、成形等。这种装置非常像用于热塑料加工的螺杆挤出机。螺杆的主要作用是沿筒产生不同的区域,使食物能分步进行加工。固态或者液态的原料从加料斗进入挤出机的进料区,然后被传送到过渡区。在过渡区,原料经过压缩、混合、剪切、加热,形成一个黏稠可塑的面团。在定量区,可塑性面团在注入模具成形之前,需要进行进一步加热和剪切。离开模具后压力降引起过热的水快速进入面团,如果面团中含有淀粉,凝胶化作用将使面团膨胀成为多孔且易碎的结构<sup>[35]</sup>。最后切割产品,用滚筒成形,烘干包装。

在挤出烹制过程中剪切速率、温度及水分的改变,以及由此引起的物理化学变化,如蛋白质变性,多糖凝胶的形成和分子结构再定向等<sup>[36]</sup>,可能会导致生面团黏度相差超过一个数量级。所以成功挤出食品需要对加料速度、螺杆速度、温度和湿度进行精确的监测和控制,以生产并控制所需产品的性质。在食品挤出前,了解定量区食品混合

## J

物的黏流变特别重要,而这绝非易事。因为与均一混合物和简单聚合物的混合物不同(它们主要的变化是熔化),食品生面团是很复杂的混合物,难以确定其确切的化学组成和结构。人们已经尝试使用从塑料挤出得来的半经验模型来描述烹制生面团的表观黏度,这对于评估食物组成可能有所帮助<sup>[37,38]</sup>。Remsen 和 Clark<sup>[36]</sup>利用 Instron 毛细管黏度计和面糊黏度测定法来描述典型大豆粉生面团的流变学性质与所用的切变率、温度和时间-温度关系曲线的关系。Fletcher 等研究了玉米混合物的黏生面团流变值与各挤出变量(压力、切应力和温度)之间的关系<sup>[39]</sup>。他们使用的是配有狭缝模具的仪器化的单螺杆挤出机,并将结果与产品性能关联起来。这种方法的优点是食品原料能发生随挤出烹制过程的变形历程,而该变形历程在实验室流变仪上是难以重现的。

### 3. 动物饲料生产

在动物饲料行业,挤出工艺是生产球状饲料的一种方法,一般制成直径为 4~8mm 的短的圆柱体。小球是精确控制动物饮食的方便方式,优点如下<sup>[40]</sup>:与松散混合的饲料相比,球状饲料可以使动物的进食量得到更好的控制,组成可控的复杂食品易于生产;球状饲料可以包含合理搭配混合的 30 种成分,动物可以吃到更加美味的球状饲料且易于消化;在挤出过程中,饲料混合物被压缩成密度更大的产品,只需更小的储藏空间。

球状食品由不同化学成分(淀粉、油、纤维和水分)和物理性质(粒子大小、堆密度和保湿能力)的原料混合制成。典型家禽饲料的组成通常比较复杂<sup>[41]</sup>。原料的性质决定了形成小球的质量。加入少量的挤出或造粒辅料(黏合剂、润滑剂)可以改善设备性能和颗粒质量(脆性、大小均匀性)<sup>[42]</sup>。饲料工业常用的添加剂包括蜂蜜(通过蒸汽活化具有黏合作用)、脂肪酸润滑剂(用以减少原料通过长长的模具时,挤压带来的产品-金属间的摩擦)、木素磺酸盐(树中的木质素衍生而来的有机物,能提高小球的质量和产率),以及矿物黏合物(如球状黏土和皂土)或纤维素黏合物(如羧甲基纤维素钠)。少剂量的纤维素黏合剂能够改善造粒过程,降低小球的易碎性。

制粒过程包括<sup>[40]</sup>:在挤压前混合并调整饲料混合物、挤压、颗粒切割、冷却。饲料混合物很复杂,由多种组分的大小和相对密度的粒子以不同比例组成,为了确保均匀性,需要进行彻底的混合。产品调整通常需要加入 15% 的水,然后加热到控制好的温度,使淀粉成胶或转变成简单的糖。这个反应使淀粉发挥黏合剂的作用,并且将食物转变成适于挤压的状态。最有效的调整和加热方式是使用蒸汽。最佳调整参数如原料湿度、温度和加热时间均取决于混合物的成分<sup>[42]</sup>。例如,高淀粉低纤维的食物需要的加热温度是 80~85℃,含牛奶和糖等热敏性成分的饲料最高不能超过 55℃<sup>[39]</sup>。

### 4. 挤出挤压

根据 Sebestyen<sup>[40]</sup>的建议,颗粒磨可以分为圆盘-模具挤压机(disk-die press)和环-模具颗粒磨(ring-die pellet mill)。前者的模具由位于水平面上的圆盘组成,圆盘上钻有排列有序的孔。一套滚筒在圆盘上表面来回滚动,在此过程中滚筒将食物扫到孔中,并将食物挤压形成球状或块状。固定于圆盘下可调节的旋转的刀片,把挤出物切割成合适的长度。在另一种设计方案中,圆盘旋转而滚筒和刀片固定不动。

环形制丸磨的模具在水平面上呈放射状排列,滚筒在模具内表面转动。滚筒偏离模具表面,留下小空隙,使形成薄的产品层,从而优化了产生率。滚筒的外围速率取决于模具直径,即小直径孔的速率高,大直径孔的速率低。

### 5. 冷却

热的颗粒刚出挤压机时很柔软,容易磨损和变形。因此需要最后一步工序来硬化颗粒<sup>[40]</sup>。固定在磨底部的冷却设备利用周围空气或冷空气可以降低成品颗粒的温度,并能除去多余湿气。

## 制药工业

制药工业应用挤出工艺生产多种剂型的药物,如栓剂、植入剂、颗粒剂等。

栓剂和阴道栓剂的大规模生产可以使用熔融法,即药物分散在熔融的基质中,然后将混合物倒入模子中固化,也可以使用冷压法<sup>[43,44]</sup>。在冷压法中,将药物和冷的可可油或半合成脂肪酸酯基质混合放入圆筒中。对注射器活塞施力,使粉料通过与模子相连的小孔挤出。可移动的端板能够防止物料丢失,在压力的作用下这些物料被填进空腔。端板撤去以后,进一步的挤压把栓剂推出孔外。冷却挤出设备,防止组分因挤压摩擦生热而熔化。

挤出工艺在制药工业中最重要的应用,是制备由一种或多种药物组成的大小、形状和相对密度均匀的颗粒或小丸。该工艺有一个预阶段,即将干粉、药物和赋形剂在普通混合器中混合,然后加入液相,进一步混合以保证各组分均匀分布(图 7)。湿粉料被挤压通过圆筒形的模具或多孔有圆洞(圆洞直径通常为 0.5~2.0mm)的筛板被挤出,得到圆柱形挤出物。这些产物或许还需要进一步加工,如经

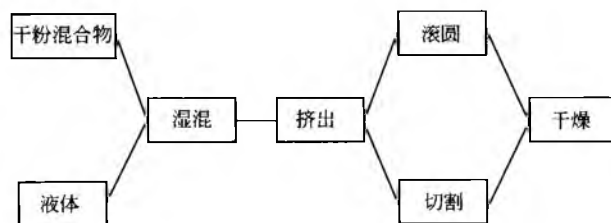


图 7 制药工业挤出工艺示意图

剪切和干燥得到颗粒、经滚圆<sup>[24]</sup>后得到球状细粒再进行干燥。这种球状颗粒通常需要用聚合物包衣来控制药物释放的速度,或者被填充到硬明胶胶囊里以得到多单元剂型。

### 用于制药工业的挤出设备

根据模具的设计和运料到模具区的进料机制的不同,商用挤出设备可以分为以下几类:

#### 1) 筛板挤出机

筛板挤出机使用的是螺杆加料装置,由在筒内旋转的单个或双螺杆构成,它可以把潮湿的物料从加料漏斗带到模具区。模具由一层薄钢板组成,在钢板上排列有大量呈放射状或向螺杆进料方向轴向排列的小孔(图8)。这种设计的优点是它具有连续不断的高生产率,实验室水平的单螺杆挤出机可以每小时生产5kg湿样,大型双螺杆机可达800kg/h。这种筛板容易清洗和更换,直径可低至0.5mm,且都已商品化。这种装置的缺点是螺杆结构会给原料施加很大的压力,导致湿料流经螺杆和筒之间时产生过多的摩擦和热量,轴向排列的模具特别如此。筛板挤出机往往死体积过大,会在进料螺杆和筛板间滞留原料。当湿粉含有与水接触不稳定成分时应当注意。模具孔低的 $L/R$ 值会造成挤出机压紧效果较低,并且影响其表面的光滑,即“鲨鱼皮样”。这个问题有时可以通过改变生产率来解决,其将在后面讨论。

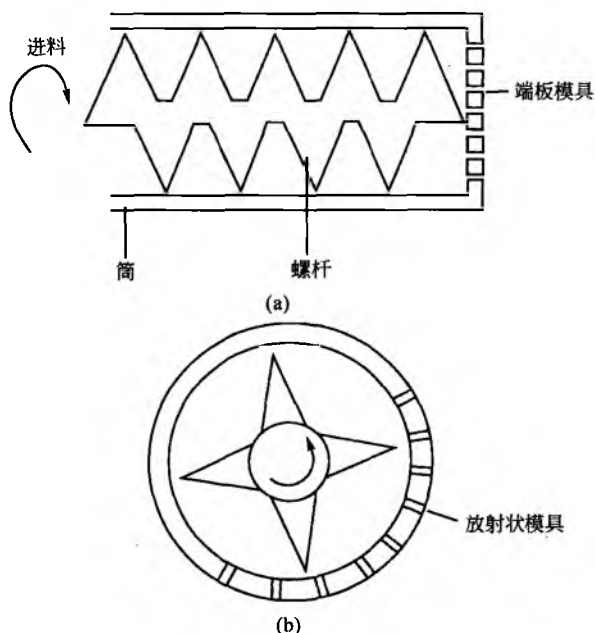


图8 螺杆挤出机。(a) 端板模具和 (b) 放射筛板模具

图9是一台由日本Fuji Paudal公司生产的装配有双螺杆和放射状模具筛板的挤出机。水可以在中空的挤出转子循环流动,维持挤出区的温度恒定。这对处理热敏性原料,控制温度、挤出物湿度和黏度非常有用。可互换的筛

板表面布满了直径为0.5~1.5mm模孔,因而能生产直径不一的挤出物。采用固定或变速的防爆马达,适于安全处理含有易燃溶剂的湿料。原料加工过程中所有相关的部件都由高级别不锈钢制成。如果需要制备高相对密度的挤出物,就要安装轴向的模具板。

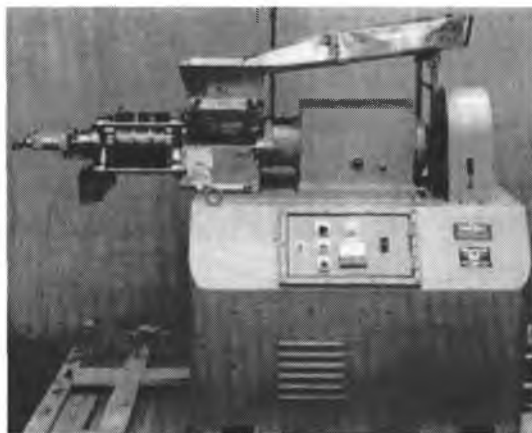


图9 带有放射状筛网模具的双螺杆挤出机,由日本Fuji Paudal公司生产

瑞典生产的Nica系统的筛板挤出机采用了新的工作原理(图10)。它含有一个围绕挤出转子的放射状筛板和一个配有角度可变的推动刀片或隔板的旋转圆盘。在此之上是一个反向旋转的中心进料刀片。挤出转子和进料刀片的速度都是可变的。物料通过加料斗重力给料后,被扫入刀片中,在压力作用下挤压通过筛板上的小洞。制造商介绍说这种设备有几个优点:第一,压力仅在挤出时加在一小部分物料上,即只存在于挡板和筛板之间;第二,温度的升高很少,在湿粒和挤出物间没有湿度梯度,所以可以不用冷却装置。挡板前的死体积较小,可低至每挡板15g。研发和小规模的生产采用了挤出速度为4kg/min的挤出机,更大规模的生产则采用了挤出速度为12kg/min的挤出机。

#### 2) 转筒挤出机

该设备的工作原理基于两个反向旋转的圆筒(图11)。制粒圆筒是多孔的,起到了模具的作用。其孔直径和 $L/R$ 值可以调节,所有的小孔在空间上的排列比筛板挤出机中的分散得多,采用钻孔而非筛板挤出机中冲孔的单片结构。另一个圆筒是实心的施压圆筒,物料受重力作用从加料漏斗到达两圆筒间的模具区域,并且黏附在实心筒有凸边的表面,经模具圆筒挤压形成薄层。虽然挤出是一个连续过程,但是由于模具的旋转作用,物料通过小孔是间断的。在穿孔产生的压力的作用下湿料被压缩,挤出物进入圆筒的内部。而该压力的大小取决于穿孔的长度和直径,因此 $L/R$ 值高的小孔能得到较好的湿料稠度,这对后继的加工过程中颗粒的机械强度和稳定性非常重要。转筒挤出机的另一个优点是受黏附在施压筒表面的物料薄层的限制没有盲区。因为在进料区圆筒仅施压于小部分物料,所以不易

形成湿梯度，但是清洗制粒圆筒的工作还是非常麻烦，尤其是当  $L/R$  值较大时，残留在模具小孔的物料更难除去。

另外由于必须在不锈钢上打孔，所以制粒圆筒的造价很高。

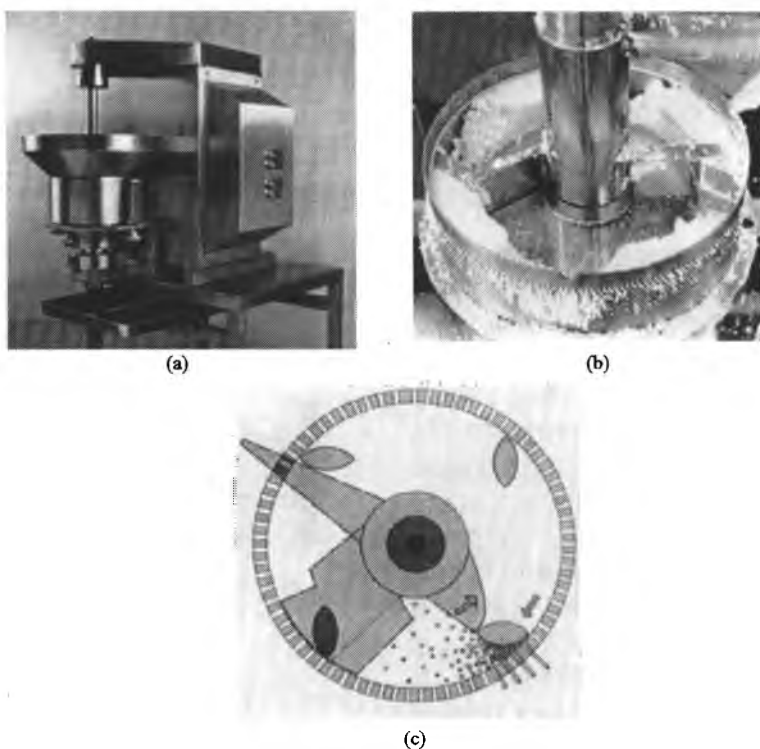


图 10 Nica 系统的放射筛板挤出机：(a) 设备安装好；(b) 拆开显示挤出机制；(c) 截面显示工作原理

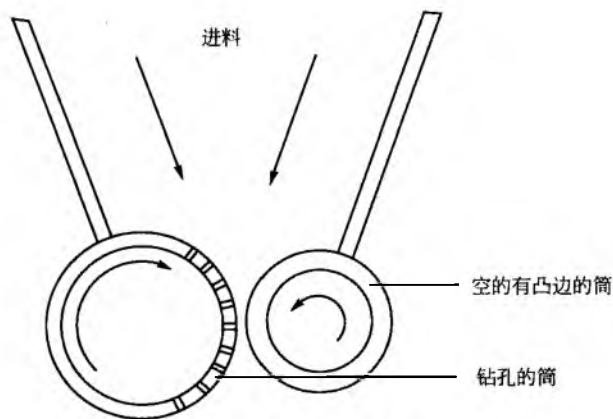


图 11 转筒型挤出机

Alexandrwerk 公司（德国）生产的圆筒挤出机如图 12 所示。这种设备能将物料计量送入工作区。在最小型的机器上通过旋转台加料漏斗实现，大型机器的加料速率由固定在加料漏斗上的螺杆加料器控制。该挤出机的产率取决于模具小孔的直径、 $L/R$  值和进料速率。使用直径为 70mm 的制粒圆筒，实验室规模的挤出机产量为 30~50kg/h，制粒圆筒直径为 186mm 的生产规模的挤出机产量可以达到 100~105kg/h。现在已经有了模具孔径为 1.0~5.0mm 的

可以更换的圆筒。一种具有三平行挤出机头的多单元设备的挤出产率可高达 3000kg/h。

生产规模扩大时，为防止壁厚度和模具的  $L/R$  值变得过高，模具圆筒的直径不能相应地增加，这导致物料承受的挤出压力增大。为克服上述问题，使用了特殊的经扩钻的圆筒，并且减少圆筒上齿孔的深度，从而得到了规模扩大的情况下最佳的挤出条件。施压圆筒中的冷水循环可以缓解挤出过程中温度的升高。另外具孔圆筒中的刮刀片可以切断挤出物，方便处理。

### 3) 旋转齿轮挤出机

旋转齿轮挤出机的工作原理和圆筒挤出机大致相同。这套设备中有两个中空反向旋转的齿轮圆筒，齿轮圆筒上带有扩孔模具——该装置由生产商（Bepex, Berwind 公司）命名为喷嘴，它钻在齿之间的圆筒上（图 13）。物料经漏斗在重力作用下进料，由具齿圆筒引入并并通过喷嘴挤进圆筒的中间，刮刀切割挤出物。物料通过喷嘴时被压缩成高密度的挤出物，挤出物密度取决于喷嘴的  $L/D$  值（喷嘴长度和直径的比值）。两个旋转齿轮均可以产出，所以使用这种设备可以取得更高的产率。其设备和锯齿状齿轮圆筒如图 13（b）所示。

现在已经有了喷嘴  $L/D$  值可变且可互换的齿轮筒，这



图 12 德国 Alexandrowerk 公司生产的圆筒挤出机：  
(a) 实验室规模的挤出机；(b) 模具筒和  
施压筒

种齿轮通过转子内部的扩孔来减少模具的长度，或者是用可替代的嵌入式喷嘴来增加小孔的长度，从而改变了  $L/D$  值。小孔的直径范围为 1.0~10.0mm，可以产生一系列颗粒大小不同的产品。改变圆筒的转速和給料速度可以控制

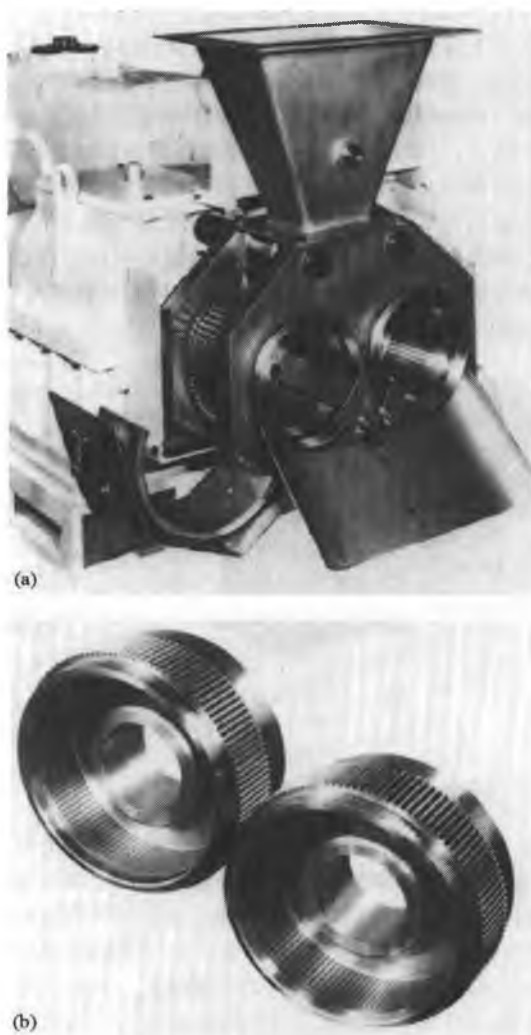


图 13 旋转齿轮挤出机 (a) 和具齿圆筒 (b)

挤出生产率，实验规模的挤出能力约为 20kg/h，工业化生产规模约为 1000kg/h。对于大设备或流动性差的物料，可以在漏斗装搅拌器以防止粘连；对于更黏的产品，要使用带有圆锥形进料螺杆的特殊的加料漏斗，加料漏斗上带有接触刷；对于需要控制温度的物料，在挤压齿轮中装备循环水作为冷却装置来调节温度。最近，英国的 G. B. Caleva 公司已生产并销售和上述设计相似的药用齿轮挤出机。

#### 4) 撞锤挤出机

工业撞锤式挤出机广泛用于塑料和橡胶工业，可以为加冷料的大型螺杆挤出机提供温的条状物原料，也可以为射出成形和压缩成形机器生产条状物原料或半成品。特殊物质在加工过程中需要严格的监控或者不容易用螺杆挤出机处理，比如蜡类产品（如着色蜡笔、牙蜡和火箭推进剂）、湿粉和黏土状物质（如粉笔）等。柱塞式挤出机可以对温度、大小、挤出物的质量等几个控制参数进行监控。图 14 是一款由英国 Barwell 国际公司生产的高性能的柱塞



# J

式挤出机，它由一个固定在恒温受控管道内的镀铬筒组成。挤出机头上排布了一系列的模具。物料可以由人工或机械的方式加入筒内，采用真空排出系统中的空气。物料通过液压制动撞锤挤出，液体通过一种特殊的阀系统感受物料塑性的改变，并补偿撞锤的压力使物料能够通过小孔挤出。在飞轮的表面安置多速切割仪切割模具表面的挤出物。挤出物的量是切割速度和设置的撞锤速度的函数，并且精确度可以控制到<1%。双筒和撞锤联合使用可以实现连续操作，由单螺杆体系依次给两只筒加料。挤出机有多种型号，筒的体积从4.5~8.0L不等，产率最高可达800kg/h。



图 14 Barwell 撞锤式挤出机

## 5) 挤出机的选择

要根据对挤出物的主要要求和挤出物进一步加工的情况选择挤出机。如果要生产用流化床进行干燥的大小均一的制粒，就需要选用低压缩系统，比如多种类型的筛板挤压机。如果要得到稠度较高的挤出物（比如滚圆时要求稠度较高），就可以采用圆筒或齿轮挤出机。栓塞式挤出机能准确控制挤出物的相对密度、大小和形态，是用于制备皮下植入制剂的药用聚合物的理想挤出设备。

与中试和生产所需的大规模设备相比，用于研发工作的小规模设备更值得关注。选择设备不一定要追求最高产率，因为后续的处理工序（如切割、滚圆和干燥）是分批进行的，所以它们是限速步骤。因为挤出是一个连续的过程，以上提到的几种挤出机能够满足多种用途的生产速率。

制药工业的挤出设备必须遵守 GMP 标准。机器必须用表面光滑的耐用材料制成，以防粘连外来杂质并且利于清洗。设备材料不能和产品相互作用，且应该耐腐蚀，消毒剂对其影响可以忽略不计。与产品接触的设备表面和零件必须全部由高级别不锈钢组成，并且不易受处理原料或生产过程中的润滑剂的影响。通过凹形的按键可以控制整个生产过程。

## 缩写与符号表

$A_0$	初始横断面积
$A$	模具横断面积
$C$	依从性

$D$	模具直径
$D_0$	筒身直径
$(du/dr)_w$	模具壁切变率
$ESR$	拉伸速率
$EV$	表观拉伸流动黏度
$K$	幂律流体黏度常数
$L$	毛细管长度（模具）
$n$	非牛顿流体程度（幂律指数）
$n_b$	Bagely 入口修正
$P$	沿模具压强
$P_e$	模具出口压
$P_0$	上游压耗
$P_{0w}$	0 速压降
$P_T$	总压降
$P_{TV}$	速度 $V$ 时压降
$Q$	挤出物的体积流量
$R$	毛细管（模具）半径
$RS$	可恢复剪切
$T$	抗拉强度
$U$	塑性黏度
$V$	挤出速度
$x$	牛顿液层厚度
$\alpha$	模具屈服压力速度系数
$\beta$	挤出机塑模型槽黏性因子
$\gamma$	切变率
$\eta$	表观黏度
$\sigma_y$	屈服值
$\sigma_{y0}$	0 黏度屈服值
$\theta$	半集中角
$\tau$	切应力
$\tau_0$	模壁 0 速切应力
$\tau_w$	模壁切应力
$\tau_y$	流动开始克服的切应力

## 参考文献

1. Bagley, E. B. J. Appl. Phys. 1957, 28, 624—627.
2. Han, C. D.; Charles, M. Trans. Soc. Rheol. 1971, 15, 371—384.
3. Harrison, P. J. Extrusion of Wet Powder Masses; University of London; 1982.
4. Jastrzebski, Z. D. I & E C Fundamentals, 1967, 6 (3), 445—454.
5. Wilkinson, W. Non-Newtonian Fluids; Pergamon Press; London, 1960.
6. Harrison, P. J.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. J. Pharm. Pharmacol. 1984, 36, 796—798.
7. Benbow, J. J.; Ovenston, A. Trans. Br. Cer. Soc. 1968, 67, 543—567.
8. Benbow, J. J. Chem. Eng. Sci. 1971, 26, 1467—1473.



9. Benbow, J. J.; Oxley, E. W.; Bridgwater, J. *Chem. Eng. Sci.* 1987, 42, 2151—2162.
10. Benbow, J. J.; Bridgwater, J. *Chem. Eng. Sci.* 1987, 42, 915—919.
11. Cohan, R. K.; Newton, J. M. *Int. J. Pharm.* 1996, 131, 201—207.
12. Cogswell, F. *Polym. Eng. Sci.* 1972, 12, 64—72.
13. Bealy, J. M.; Wisbren, K. *Rheology of Molten Plastics Processing*; Van Norstrand; New York, 1990.
14. Chohan, R. K. *J. Appl. Polym. Sci.* 1994, 54, 487—494.
15. Beart, L.; Remon, J. P.; Knight, P.; Newton, J. M. *Int. J. Pharm.* 1992, 86, 187—192.
16. Tomer, G.; Newton, J. M. *Int. J. Pharm.* 1999, 182, 71—77.
17. Tomer, G.; Newton, J. M.; Kinechesh, P. *Pharm. Res.* 1999, 16, 666—671.
18. Tomer, G.; Mantle, M. D.; Gledden, L. F.; Newton, J. M. *Int. J. Pharm.* 1999, 189, 19—28.
19. Harrison, P. J.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. *J. Pharm. Pharmacol.* 1985, 37, 81—83.
20. Raines, C. L.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. *Extrusion of Microcrystalline Cellulose. Rheology of Food, Pharmaceutical and Biological Materials with General Rheology*; Carter, R. E., Ed.; Elsevier Applied Science; London, 1990; 268—287.
21. Harrison, P. J.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. *J. Pharm. Pharmacol.* 1984, 36, 796—798.
22. Fielden, K. E. *Extrusion and Spheronization of Microcrystalline Cellulose/Lactose Mixtures*; University of London; 1987.
23. Newton, J. M. *Extrusion/Spheronization. Powder Technology and Pharmaceutical Processing*; Ghulia, D., Delevil, M., Paercelt, Y., Eds.; Elsevier Biomedical; Amsterdam, 1994; 391—401.
24. Battiste, O. A. *Microcrystalline Polymer Science*; McGraw-Hill; London, 1975.
25. Basit, A.; Newton, J. M.; Lacey, L. F. *Pharm. Dev. Tech.* 1999, 4, 499—505.
26. Tufvesson, C.; Lindberg, N. O.; Olbjer, L. *Drug Develop. Ind. Pharm.* 1987, 13 (9—11), 1891—1913.
27. Jover, I.; Podczek, F.; Newton, J. M. *J. Pharm. Sci.* 1990, 85, 700—705.
28. Lustig-Gustafsson, C.; Johal, H. K.; Podczek, F.; Newton, J. M. *Eur. J. Pharm.* 1999, 8, 147—152.
29. Johnson, P. S. *Developments in Extrusion Science and Technology*; Polysay Ltd.; South Samia, Ontario, Canada, 1982.
30. *The Dynisco Extrusion Processors Handbook*; Whelan, T., Dunning, D., Eds.; London School of Polymer Technology, Polytechnic of North London; London, 1988.
31. Smoluk, U. R. *Modern Plastics Mt.* 1988, 18 (12), 49—56.
32. Schott, H. *Polymer Science. Physical Pharmacy—Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences*; Martin, A., Swarbrick, J., Cammarata, A., Eds.; Ch. 22; Lea & Febiger; Philadelphia, 1983.
33. Giles, R. L.; Pecina, R. W. *Plastic Packaging Materials. Remington's Pharmaceutical Sciences*; Gennaro, A. R., Ed.; Ch. 81; Mack Publishing Co.; Easton, PA, 1985.
34. Senouci, A.; Smith, A.; Richmond, P. *Chem. Eng.* 1985, 417, 30—33.
35. Owusu-Ansah, J.; Van de Voort, F. R.; Stanley, D. W. *Can. Inst. Food Sci. Technol. I.* 1984, 17 (2), 65—70.
36. Remsen, C. H.; Clark, J. P. *J. Food Process Eng.* 1978, 2, 39—64.
37. Harmann, D. V.; Harper, J. M. *Food Sci.* 1974, 39, 1009—1104.
38. Harper, J. M. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1979, 11 (2), 155—215.
39. Fletcher, S. I.; McMaster, T. J.; Richmond, P.; Smith, A. C. *Chem. Eng. Commun.* 1985, 32, 239—262.
40. Sebestyen, E. *Flour and Animal Feed Milling* 1974, 156 Oct, 24—25, Nov. 1974, 22—25; Dec. 1974, 16—18.
41. Young, L. R.; Pfost, H. B.; Feyerherm, A. M. *Trans. Am. Soc. Agr. Eng.* 1963, 50, 144—151.
42. Payne, J. D. *Milling Feed Fert.* 1978, 161, 34—41.
43. Anschel, J.; Lieberman, H. A. *Suppositories. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*; Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; Ch. 8; Lea & Febiger; Philadelphia, 1976.
44. Hadgraft, J. W. *Rectal Administration. In Bentley's Textbook of Pharmaceutics*; Rawlins, E. A., Ed.; Ch. 25; Bailliere Tindall; London, 1977.

(熊龙启 张小红 译)

# J

## 计算机系统的验证

Orlando Lopez

Johnson & Johnson, NCS, Raritan, New Jersey, U. S. A.

### 引言

计算机系统的验证,是由联邦法规(CRF)21条款的11.10(a)部分所规定的,由最近的美国食品药品监督管理局(FDA)指南草案加以定义<sup>[1]</sup>,是适用于执行FDA法规的计算机系统的最重要要求之一,它要求在计算机系统的使用、用户、规章、安全性及功能等方面建立一致性。

与其他FDA法规要求类似,在计算机系统从构思、开发,到应用的整个周期中,都必须有质量的概念,而不能在计算机系统开发好了以后再对其质量进行测试。除了软件和硬件的测试,还要对程序代码的执行、动态分析和跟踪分析进行核实。在验证过程中生成的文件可供FDA现场调查员检查。高质量验证程序的结果能确保电子记录和计算机系统相关功能的高度可信。

### 概况

1997生效的CFR 21款11条提出了电子记录、电子签名法案的正式文本(以下简称11条),它适用于执行FDA规定操作的计算机系统。11条的一个基本原则是要求相关部门一旦将记录记在永久的媒介中,就应以电子形式保存规定的电子数据,而不是像长期以来所做的将数据打印在纸上<sup>[2]</sup>。如果信息不是记录到持久性的媒介中,储存的数据就可能会丢失,也就无法调出供将来使用。如果“可重复使用”是电子数据一个属性,11条中的程序和技术控制则是保证数据完整性的必要条件。在产品开发到淘汰的整个周期中(SLC)应对程序和技术控制的实施加以监控以达到符合11条要求。

下面列出了计算机系统验证的几个重要方面,适用于任何开发和维护方法,但本章不准备论及计算机系统验证包含的所有内容,包括第11条。有关计算机系统验证的更多的资料请查阅本章后列出的参考书目。

### 主要验证内容

成功执行计算机系统验证项目所需的主要内容有:

- 选择一个最适合正在开发的系统性质的开发及维护方法;
- 确认与用户、操作检查、管理制度、公司标准及安全要求相关的操作功能;
- 以容量和功能为基础选择硬件;
- 检查和测试操作功能;

- 在恶劣的操作或生产环境中进行测试;
- 按统计学要求进行重复测试;
- 编写验证过程的文件<sup>[3]</sup>;
- 编写设计规格,描述本软件的用途及如何实现;
- 按设计规格编写验证计划,包括结构和功能的分析;
- 测试结果,并对结果进行评价,以判断规格指标是否达到;
- 易于进行过程控制,以便将计算机系统和它的操作环境保持在验证状态;
- 针对系统部件和运行环境的任何修改都要评估对系统的影响,若有必要,应全部或部分重新进行鉴定和验证。

#### 1. 选择一个开发及维护方法

SLC是从产品构思开始至产品淘汰结束的整个时间段<sup>[4]</sup>,符合法规要求的计算机系统的开发和维护工作,有时会断断续续地进行。参阅“验证过程文件编写”,选择的SCL确定了总的周期和相关事项。不同系统的开发策略和软件开发模型见图1<sup>[5]</sup>。SLC模型主要关注的是软件工程的主要运作,并不指定或限制任何特定的软件开发方法。由客户决定进行标准概述的哪一项工作,开发者负责选择合适方法以达到合同的要求。可修正的工作框架必须进行调整以适应每一个项目的特殊要求。SLC包括以下阶段:

- 构思;
- 开发;
- 初期的操作;
- 成熟;
- 老化;

项目的推荐、启动、完成供使用及退出都是阶段的分界点或关键决策点,在正式认可后开发才可进入下一阶段。

与SLC相关的开发方法是一个结构化程序,为了支持计算机系统验证,它将工程任务和相关的结果进行分解。它将系统开发过程分解成时间段,每个时间段有与计算机系统用途相符的特定的检查和测试任务。在每个时间段生成详细的不连续结果。本方法能产生有详细文档的系统,从而系统的测试和维护也比较容易。人们也有信心认为系统的功能已充分实现,不可预料的问题也会最少。

最通常的开发方式有瀑布模型、逐渐增加的开发模型、进化模型、目标定向和螺旋模型等。

验证过程的一个重要指标是能确保开发和维护是按特定方式进行,按法规要求运行的计算机系统的过程控制中要指定SLC和相关的开发及维护方式。项目组应有权选择

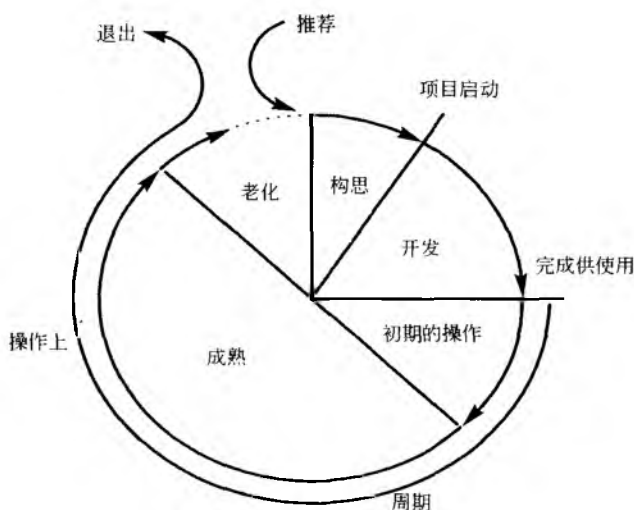


图1 开发策略和软件开发模型

最适合正在开发或维护的本系统性质的模型，该模型可以与相关的过程控制模型不同。如果不同，应在验证计划中对所选的模型加以说明。

按 FDA 法规运行的公司的目的是选择合适的 SLC 和相关的开发及维护模型，开发和维护人员在使用所选的模型时要接受相关的培训。

## 2. 操作功能的确认

采用结构化流程，开发阶段的目标是说明、设计、编程、测试和自动或适时地安装应用软件，开发阶段可以完成的任务之一是书面的、经确认的操作功能，如用户、功能、设计等，这些操作功能描述了该软件的用途。

确认操作功能的一个主要工作是收集系统需求。术语“需求”定义了系统可以限定的特征，包含了支持操作者的必需信息。需求包括功能容量、运行能力、安全性、可操作性、安装、系统维护和符合法规要求等。

需求指标中给出了精确的范围，从程序、使用者及法规要求三方面描述了系统的用途，需求指标作为框架的一部分，用于选择计算机技术供应商或合同开发者。系统功能必须在一开始就详细确定，这样有助于将来的供应商有足够的信息给出详细合理的报价。需求指标还用来拟定程序性能确认（PQ）协议。

需求指标包括以下内容：

- 开发者熟悉用户的过程，数据采集的需求以及项目的特别考虑；
- 系统的规模和战略目标；
- 要解决的问题；
- 过程的总结和排顺，以及每个操作完成的位置；
- 解决问题的方向，如设备驱动或仅仅是数据的显示、数据安全、数据备份、数据和状态报告、趋势等；
- 冗余度和错误检测协议；
- 环境控制；

• 界面，如场地设备、数据采集、报表和 HMI，输入/输出（I/O）列表，通信协议和数据链接需求；

- 要执行的控制/过程种类；
- 操作检查和排序；
- 数据管理；
- 输入和输出网域的定义；
- 数据的收集、使用和储存方式；
- 输入数据是如何影响系统的运行；
- 滞留需求；
- 数据安全需求；
- 核查跟踪和元数据；
- 定时需求；
- 法规需求；
- 对技术初步的评价；
- 可行性研究和初步风险评估；
- 安全考虑；
- 非功能需求，如开发标准，程序名规范标准；

需求规格的每项需求都必须是可测试的，“可测试”需求包括一个客观标准，并且该标准是没有歧义的。“可测试”需求的优点是可定量记录，以后可以对测试结果进行回顾和独立评价。

## 3. 以容量和功能性为基础选择硬件

基于操作功能和设计的要求来选择计算机硬件技术，将自动化功能通过计算机硬件或软件实现时要考虑可供使用的技术和费用。计算机硬件可以更进一步分解为许多模块，如处理器、存储器、输入/输出和网络等。

操作程序、场地仪器、控制需求、可供使用的技术和费用是选择硬件所要考虑的一些因素，该选择在设计要求中的需求规格和实施项下加以说明。设计要求中的描述要尽可能详细，使实施小组（如工程组）和硬件厂商能熟悉操作过程、场地仪器和控制需求方面的特殊要求。

这些需求包括（但并不只是以下各项）：

- 系统目的；
- 法规要求；
- 信息和材料输入；
- 初始的方框图；
- 数据处理需求（如管理控制和数据采集）；
- 输入/输出卡的数目和类型；
- 仪器使用和接线；
- 控制和信息输出；
- 运行模式；
- 警报和注意事项；
- 安全特性；
- 错误检查；
- 报告；
- 冗余需求；
- 环境需求；
- 网络需求；

- 支持程序需求；
- 人机界面；
- 总的计划和可接受标准。

重要现场仪器的使用在整个操作条件下要满足准确度和可信度要求。

#### 4. 操作的功能检查和测试

软件工程的实施包括文件单元测试、程序源代码检查、描绘高层和低层设计文件、描述需求和功能规格、结构图表和数据流图表、功能点分析、缺陷及其解决方案的跟踪、配置管理、软件开发过程的文件等。

以上是 FDA 希望在计算机系统的开发维护期间运用的相同质量原则，该原则还应包含在流程的控制中。检查和测试只是这些原则的一部分。

测试和检查是作为开发方法的一部分来执行的。在系统开发的整个过程中，以及在系统运行的整个周期中要决定该计算机系统是否可靠，需要执行大量的检查步骤，包括静态分析（如文件和代码检查）、试运行和技术总结。这些工作及结果有助于减少操作环境下系统级功能测试的次数，而这种测试是为了保证软件符合需要和使用目的。

#### 5. 以统计学为基础评价测试结果的重现性

测试不是仅使用一组测试数据运行一个程序，或是在安装之前随机选择测试项目。测试是一个渐进的过程，它是采用了基于统计过程控制原则（Statistical Process Control, SPC）和作为统计质量控制（Statistical Quality Control, SQC）程序组成之一的产品质量概念的技术<sup>[6]</sup>。

如果将软件系统看成是一种生产所需产品的制造业，然后运用统计的抽样程序和统计推论来预测测试结果的可信度。不要对程序的开发予以太多地关注，而要对数据（原始材料）转换成信息（产品）予以更多地关注。采用信息流这种设计技术可能有助于达到这一目的。

测试时输入和输出网域必须严格定义，即对下列问题的回答：① 什么抽样技术将会确保一个合适的输入值的子集，从而提供尽可能完整的软件测试？② 什么样的信息取样程序可供开发者决定产品的可靠性？

建议采用白黑箱测试案例设计策略，来对数据取样（输入网域），包括均匀分配、界面分析和错误猜测、原因-效应曲线图以及结构化图表。

在了解了软件测试的基础后再来应付统计推论的抽象原则。

#### 6. 验证过程的文件编写

##### 6.1 设计规范

软件设计中要有系统需求。在技术设计时将系统需求描述为如何实现每一项系统功能。这也包括开发子系统组件和界面、数据结构、设计限制、运算法则和系统分解。这项工作对于医疗设备公司尤其重要。设计输入包含在计

算系统的需求中，设计输出是设计规范的一部分<sup>[7]</sup>。该设计是一种完整性测试和操作检查的输入。

依照开发方法学和特定的程序控制进行设计。

- 计算机硬件和软件结构；
- 数据结构；
- 信息流；
- 界面；
- 将设计拼接；
- 进行设计审核，确认以前确定的风险是否已由设计中的解决方案加以减轻；
- 结束测试计划；
- 设计符合条款 11 的技术控制；
- 同意设计功能可交付；
- 进行在线的与技术设计相关的核查；
- 重新进行风险分析。

对于那些技术不能包括的 11 部分要求，要从程序控制开发的计划编制开始。

##### 6.2 验证计划

验证计划是一些文件，这些文件，适应公司的全部理念、意图和方法，这些方法是用于确定特定的计划，可行性的。文件说明谁负责执行开发和验证工作，指定哪个系统要验证，定义每个系统要进行的检查和测试的性质和程度，规定完成验证要遵循的方案。

概括地说，验证计划描述了下列各项：

- 计算机化项目的组织结构；
- 负责的部门或个人；
- 可供使用的资源；
- 风险的管理；
- 时间限制；
- 要依据的 SLC 和开发模式；
- 可交付的项目；
- 总的接受标准；
- 开发时间表和期限；
- 系统版本完成的处理；
- 主要文件的样本格式。

##### 6.3 测试结果和评价

虽然安装确认（IQ）、运行确认（OQ）/（PQ）等术语已经很好地表达了其功能，也是 FDA 管理的工业部门组织计算机系统测试任务的正规途径之一，但许多软件专业人员也许不能很好地理解这些术语，但管理部门必须知道这些术语的差别。

一旦确认方案完成后需要对测试结果和资料进行正式评估。评估报告的编写要清晰易懂，报告中也要说明验证中与验证计划的偏差和不一致。报告的框架应与相关的方案一致，确认测试也应和相应的功能指标相关，如 PQ 和可交付的系统要求指标、OQ 和可交付的系统指标、IQ 和



可交付的技术设计指标。可行的话，将其包括在系统所有组成部分的测试结果和技术评价中。

在很大的项目的验证中，报告要按标题和文件参考编号，报告提及其他文件，则其他文件应满足方案要求，小项目可将原始数据附在验证报告之后。

由合适的、有资质的人汇集和评审、确认结果和文献，然后由负责人，包括质量保证人员批准确认结果。在所有确认报告的批准表明计算机体系总体上已达到设计目的，所有部件的文档均已提供。对于控制制造设备的计算机系统（过程控制系统），所有确认报告的批准则意味着系统可进行性能确认。关于其他的计算机系统，批准所有报告表明可将该系统交付用户。

在有关的确认报告中应说明 11 条要求的测试结果。在项目报告中应总结计算机系统开发维护过程中各项工作的结果和整个开发过程中关键检查点的检查结果。

最终的结果要证明在开发过程中遵循了项目计划规定的软件开发质量管理规范。

项目报告也要说明项目开发过程中的所有确认和测试结果。在系统交付使用前要批准项目报告。

6.4 维护验证

体系交付使用后由维护接管，维护必须遵循开发阶段一样的操作规范。

执行规范操作的计算机系统的验证状态容易受在操作环境中已知或未知的变化。遵循安全性、运行管理、商业连续性、调整管理、周期性复查和退役的原则，可以高度保证系统处于验证状态。机构的目的是按规范操作，以最大限度地减少进行管理运算的计算机系统处于非验证状态的可能性。

计算机系统的维护成为关键，特别是软件更新版本时更是如此，必须要调整控制规范，在计算机硬件和软件进行变更时进行评价批准和安装。

如有必要，要进行附加的分析来评价更新对计算机系统的影响（如影响分析）。这个过程应允许有计划的和突发的变化，还应包括相关文件的更新甚至规范本身的更新。对系统的更新应加以记录，并和其他的管理文件保存同样时间。

表 1 总结了计算机系统有关使用年限的规定和关键的操作。

表 1 计算机系统使用年限

使用期限	主要特征	主要操作
早期的使用期	投入使用	发现问题和维护
成熟期	修改、适应、完善及预防性维护	运行检查和性能评估
衰老期	过时的技术维护问题（如电子记录的读取）	周期性回顾及工程再分析

7. 计算机系统调整的评价

法规要求，所有的维护工作必须在评价和批准后进行，还要与所选定的 SLC 模式一致。

对软件系统的维护还包括以下内容：

- 因为有了新的功能或新的要求对系统进行完善性维护和调整；
  - 新环境包括新硬件、新传感器或控制设备、新操作系统和新规范所要求的适应性维护或调整；
  - 在系统的设计、逻辑或编程上发现了错误而进行的校正性维护和调整，有必要认识到，软件缺陷存在的时间越长，修复的费用越高。
  - 为了将来的升级方便，改善将来的可维护性或可靠性所进行的预防性维护和调整。
- 已验证的体系交付使用时，变动管理控制规程应到位，变动管理控制规程规范了以下活动：
- 确定和描述变更；
  - 评估风险、重要性及变动的影响；
  - 指定测试要求和指标；
  - 在批准后进行变更；
  - 进行回归测试；
  - 第三方评估变更；
  - 更新体系和用户文档以反映已实施的变更；
  - 制定处理意外变更的规定，包括文档的迅速调整。

系统开发文档

支持 SLC 的因素之一是系统开发文件的可用性和维护，开发者将各个系统单元的开发过程、系统部件和配置项都记录在软件开发文件中。

开发者应为每个单元或逻辑相关组编制一个独立的系统开发文件，还应制定和检查机构要求提供系统开发文件，可以采用自动化的方式生成、维护 and 控制系统开发文件。为减少重复，系统开发文件中不应包含其他文件中的资料或系统开发文件。一套系统开发文件包括（直接包括或引用）以下资料：

- 设计考虑和限制；
- 设计文件和资料；
- 进程和状态信息；
- 测试要求和职责；
- 验证、测试流程和结果。

总结

在美国 FDA 管理的范围内进行计算机系统的验证是一项正在进行中的过程，整合在整个系统生命周期（SLC）中，遵循系统生命周期和重要的验证因素，软件系统的质量就能得到保证。

## 参考文献

1. Food and Drug Administration. Draft "Guidance for Industry: 21 CFR Part 11; Electronic Records; Electronic Signatures Glossary of Terms"; U.S. Department of Health and Human Services; Washington, DC, August, 2001.
2. Note that Part 820 requires that "results" of acceptance activities be recorded but not necessarily all raw data. "Results" must have audit trails. Be sensitive to the need for raw data during failure investigations under Corrective and Preventive Actions. Refer to Part 820 preamble, pp. 52631 and 52646.
3. FDA. Guidance for the Industry: Computerized Systems Used in Clinical Trials; April, 1999.
4. ANSI/IEEE Std 610.12-1990. Standard Glossary of Software Engineering Terminology; Institute of Electrical and Electronic Engineers; New York, 1990.
5. Herr, R. R.; Wyrick, M. L. A Globally Harmonized Glossary of Terms for Communicating Computer Validation Key Practices; PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, March/April, 1999.
6. Cho, C.-Q. Quality Programming: Developing and Testing Software Using Statistical Quality Control; Wiley; New York, 1987.
7. López, O. Applying design controls to software in the FDA regulated environment. J. cGMP Compliance July, 1997, 1 (4).
8. Grigonis, G. J.; Subak, E. J.; Wyrick, M. L. Validation key practices for computer systems used in regulated operations. Pharm. Technol. June, 1997.

## 参考书目

Annex 11 of the EU-GMP.  
ANSI/AAMI SW68. Medical Device Software—Software Life Cycle Processes; Association for the Advancement of Medical Instrumentation, 2001.  
ANSI/ISO/ASQ Q9000-3. Quality Management And Quality Assurance Standards-Part 3; Guidelines for the Application of ANSI/ISO/ASQC Q90001-1994 to the Develop-

ment, Supply, Installation and Maintenance of Computer Software; 1997.

FDA Compliance Policy Guides for Computerized Drug Processing. CGMP Applicability to Hardware and Software (CPG 7132a.11); Vendor Responsibility (CPG 7132a.12); Source Code for Process Control Application Programs. (CPG 7132a.15); Input/Output Checking (CPG 7132a.07); Identification of "Persons" on Batch Production and Control Records (CPG 7132a.08); Enforcement Policy; 21 CFR Part 11; Electronic Records; Electronic Signatures (CPG 7153.17).

Grigonis, Subak, Wyrick. Validation key practices for computer systems used in regulated operations. Pharm. Technol. June, 1997.

Good Automated Manufacturing Practice Forum (Rev 4). Supplier Guide for Validation of Automated Systems in Pharmaceutical Manufacture; ISPE, 2001.

Herr; Wyrick. A globally harmonized glossary of terms for communicating computer validation key practices. PDA J. Pharm. Sci. Technol. March/April, 1999.

IEC 62A/62304/Ed. 1 (IEC 62A/338/NP). Medical Device Software-Software Life Cycle Processes; IEC, 2001.

ISO/IEC 1207. Information Technology-Software Life Cycle Processes; ISO/IEC, 1995.

ISO/IEC 12119. Information Technology—Software Packages—Quality Requirements and Testing; ISO/IEC, 1994.

López, O. FDA regulations of computer systems in drug manufacturing—13 years later. Pharm. Eng. May/June, 2001, 21 (3).

López, O. Implementing software applications compliant with 21 CFR part 11. Pharm. Technol. March, 2000.

López, O. 21 CFR Part 11 A Complete Guide to International Compliance; Sue Horwood Publishing Limited, 2002, (<http://www.computer-systems-validation.com>), ISBN 095407067 4.

PIC/S Guidance. Best Practices for Computerized Systems in Regulated 'GxP' Environments; PIC/S, January, 2000.

Wyn, S. Regulatory requirements for computerized systems in pharmaceutical manufacture. Softw. Eng. J. 1996, 11 (1).

(高凡王浩译)

# 计算机药物辅助设计

J. Phillip Bowen

University of Georgia, Athens, Georgia, U. S. A.

Michael Cory

GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, North Carolina, U. S. A.

## 引言

药物研发是十分耗费时间和金钱的过程。每一种药物上市大概需要合成超过 10 000 个化合物并进行特性测定和生物活性测试,需要上亿美元用于基础研究和临床研究以获得 FDA 的许可和进一步的市场推广。通常药物的“发现”是通过随机筛选或靶向筛选找出活性分子,然后对活性分子的结构进行修饰、优化,使之达到所需要的活性。随着成本的快速增长、资源的短缺、日益强烈的公众监督以及更多的政府调控,这种随机筛选的方法就变得既缺乏效率也不经济。

新药开发曾经是而且将来也是一个了不起的、成功的科学努力。传统的制备和改进复杂的药物是合成药物化学家值得称赞的成就,而计算机的出现给药物研究带来了一个令人激动的全新途径。技术的革新带来了包括计算化学家在内的新的药物开发活动。一个明显的趋势就是将化学缩小为运动的粒子。分子经历快速的转化、旋转、振动和弯曲运动大多数都可以通过理论物理加以定量。化学反应特性都可以归因于分子的这些动力学特征。分子结构和生物活性之间有直接的联系,通过对分子行为的详尽了解,药物化学家有能力深入洞察药物分子最可能的构象,也可以更为深入地了解最佳的药物-受体相互作用的结构和能量因素。将实验数据和计算机信息结合,药物化学家可以更好地预测药物作用。与手持的机械模型不同,计算机设计的结构为化学概念增加了一项由 Cartesian 坐标系定义的、特殊的构象能量参数,用来定义分子的排列。当然诸如给药方式、吸收、分布、代谢、排泄(药代动力学领域)也影响药物活性,这些因素在药物设计的早期阶段就越来越受到重视。

在过去的 20 年里出现了很多药物设计的新方法。在仅仅 10 年之前我们第一次写这篇文章时起,计算机处理能力和快速显示计算机形成的结构的能力就取得了令人惊异的发展。过去二三十年里令人激动的发展催生了专门为帮助药物化学家发展新药而设计的、复杂的计算机程序。分子图形学、计算化学、化学和生物信息的联合应用通常称之为计算机药物辅助设计(CADD)。这些以计算机为基础的方法实现了一个药物化学家长久渴望的目标,即在大量实验室合成和生物活性测试之前就能够预测化合物的生物活性。也许某一天药物化学家会采取类似工程师设计建筑一

样的方式设计活性分子结构,尽管生物学问题远比建筑复杂而且相对来说我们知道的还很少。计算机辅助分子模型设计仍在初期发展阶段,令人激动的新方法和应用仍在以惊人的速度被不断报道。不仅如此,CADD 方法已经在药物设计、研究发展方面产生了巨大的影响,使人们从只能通过事后归纳的范围逐步走向更为有利的可以预测的角色。

本章对计算化学、分子模型和 CADD 理论进行了简要的介绍,很明显,这篇简短的综述不可能涉及 CADD 方法的所有方面。虽然这是一个比较新的研究领域,但还是有很多研究实例可供我们选择。如今有很多在各期临床试验和(或)已经上市的药物都采用了计算机设计的方法。我们用研究实例来更完整地说明概念性的观点。本章还讨论了很多基本的方法学,包括重要的基本数学方程。而且,很多历史上的观点也包含在本章中。最后,我们对不断更新的硬件和软件趋势也做了讨论。

## 方法学

### 1. 分子模型

有机化合物的分子模型历史悠久,John Dalton<sup>[1]</sup>用一组木球代表原子,并在上面钻孔插入小木棍代表化学键。1810 年的球棍模型原型在伦敦科学博物馆进行了展出。最近广为人知的用分子模型解决重大有机化学结构的例子是诺贝尔化学奖获得者 Watson 和 Crick 的 DNA 结构模型。起初, Watson 和 Crick 用厚纸板手工制作分子模型,后来他们对核酸的结构和碱基构象有了更深入的了解,于是采用金属做成了更精确的模型。当他们着手这项工作的过程中(1950 年中期),发现杂环碱基的正确互变异构形式存在着矛盾。第一个 Watson 和 Crick DNA 模型是建立在旧的实验结果上的,得到的是错误的互变异构体。后来用正确的碱基互变异构形式建立模型后,很快就得到了 DNA 的构象,不仅符合实验数据,而且还提出一个方法说明 DNA 与细胞复制有关<sup>[2,3]</sup>。

在这个里程碑式的成就之后 20 年,各种手持的模型开始商业化,而且广泛地被药物化学家采用。木制的球棍模型常为高等学校学生所采用,金属的 Dreiding 和 Kendrew 模型<sup>[4]</sup>(包括它的塑料模型)仍广泛用于有机化学实验室。在高解析度计算机绘图系统出现之前,X 射线晶体衍射研究人员十分依赖包括 Kendrew 模型在内的金属模型,把计

计算机计算的电子密度图转化为实体模型从而能用于研究蛋白质结构。

Linus Pauling 在研究蛋白质  $\alpha$ -螺旋结构的构象时就指出固体分子模型有助于模拟、构建大片段的多肽结构, 他的这个想法最终促使 CPK (Corey, Pauling, Koltun)<sup>[5]</sup> 空间填充模型的诞生, 这些塑料模型的设计真实地再现了原子的大小 (模型的设计是在 IUPAC 委员会的指导下制定的)。质量和实用性促使了它们的商业化<sup>[6]</sup>。许多实验室采用大量的这类模型来辅助药物设计和加深对分子形状的理解, 一些实验室尝试用这些模型来研究蛋白质和核酸。由于它们具有实感的特性, 成为优良的教学工具并有助于对立体化学和分子形状问题的理解。然而由于这些模型的塑料部分所承受的机械重力损害了大分子模型的完整性。这些模型在研究大分子方面的用处小于计算机模拟模型, 在研究配体-蛋白质 (药物-受体) 相互作用时, 实体模型就更加不能胜任了, 尤其重要的是实体模型不能准确地确定不同构象间的能量差别。

将分子图形显示在计算机屏幕上一直是计算机科学家多年来的目标, 随着计算机成本的不断降低, 显示速度和质量的提高, 用计算机模型显示分子模型大量普及。计算机图形显示从最初小的 X 射线晶体结构的球棍 (ORTEP)<sup>[7]</sup> 模型逐渐发展到交互显示的整个蛋白质的空间填充模型。计算机分子显示技术不仅是研究结构生物学和结构化学不可或缺的部分, 而且也逐渐应用于科学杂志的封面广告和许多药物媒体的广告领域。换句话说, 计算机模型不仅可以提供一些特殊的有时候甚至是微妙的生化信息, 而这些信息是手持模型所不能及的, 同时计算机方法总是代表最新的研究方法。这些发展的动力不是很小的化学市场, 而是快速增长的计算机辅助设计的应用市场。

上面指出的计算机图形显示技术和计算化学的进展使可视化应用激增。刚开始市场的扩大源自于航空制造业计算机辅助设计的广泛应用, 在 1983 年以前, 高级的分子模型软件主要是一些研究所的科学家使用, 许多进展出现于 X 射线晶体学实验室。这些复杂的软件可以通过操纵一个转盘实现坐标到三维图形的转换。很多商业的计算机建模和显示软件通过手柄、鼠标、转盘和 (或) 键盘来进行互动操作。

计算机分子模型与传统实体模型相比有很多优点。在计算机中, 分子由一系列的三维 (3D) 原子坐标来表示, 因此可以同时处理大量的分子, 这一点传统模型根本无法实现。任意数量计算机图形都可以进行叠加分析, 这些手段可以提供药物化学家一些具有相似生物活性的分子的相对大小和形状的信息, 同一分子不同构象的叠加可以提供分子可占用空间的信息。由于计算机中保存了每一个分子中每一个原子的坐标, 因此可以快速得出有关模型的键长、键角、扭转角等信息; 而且, 对决定受体部位形状很重要的非键空间距离也可快速获得并进行比较; 同时, 这些信息还可以存储, 便于以后再读取和分析。

从上面的讨论来看, 分子模型一个很重要的方面就是

分子的可视化, 当药物和受体之间分子的相互作用在图形终端上显示、操纵、旋转时, 研究人员可以辨认哪些相互作用是重要的, 哪些是不重要的。通过这样的计算机操作, 药物化学家可以确认、推翻或提出有关生物活性的分子起因的假设。计算机模拟结构的一个主要缺点是我们不能在手上实际地摆弄它们, 这不同于大学有机化学课上手持模型的感性认识。不过有趣的是, 现在的有机化学教学正在逐渐朝着用计算机模拟分子结构的方向发展。一种叫做 depth cueing 的方法可使远离观察者的部分稍显暗淡, 越靠近观察者的部分越明亮, 这种方法可以使图形在计算机终端看起来具有很强的立体感。其他方法还有使分子模型围绕它的质心缓慢旋转或前后摇动。现在计算机技术已经可在台式机上逼真地显示立体图像, 其中一个例子就是 crystal-eyes 系统 (<http://www.stereographics.com/>)。

分子模型领域不断涌现重要的进展, 首先是描述分子表面面积的运算法则的发展和应用, 用这些运算法则的软件可以把计算出的表面面积进行比较。最初被广泛应用于研究分子表面的运算法则之一是 Connolly<sup>[8]</sup> 方法。在他的运算法则里, 一个给定半径 (通常是水分子的半径) 的球体在一个给定的表面 (通常为范德华表面) “滚动”。当这个球体接触一个大分子的任何地方, 都会生成一个新的接触表面, 而这个表面的显示可以使药物化学家看清楚哪些区域应当考虑为亲溶剂表面。另一种方法在计算和显示时间方面更为有效, 它是在分子表面设置一个原点表面, 并且用原子扩展半径来计算这个表面。最近有用这个算法来显示表面的静电密度, 它为化学家提供一幅何种电荷暴露在溶剂中的图片。如果应用到药物设计, 斥溶剂表面可以指出受体位点的拓扑学结构。通过测绘物理化学函数 (如模型表面的静电势), 可以指出结合在这个表面上的分子所受到的作用力。现在, 可以快速显示透明的分子表面, 看起来就像分子骨架悬浮在明胶里一样。

第二个主要的变化与上面的讨论紧密相关, 是关于降低计算成本和提高计算速度。自从有了电脑光栅显示技术以来, 人们对现实高解析度的分子空间填充图像的算法产生了浓厚的兴趣。得益于日益发展的计算机技术, 现在很多算法都能够对分子表面进行快速的、高解析度的 “CPK” 模式显示。大部分系统能够从特定的分子排列方向计算出静态的显示。曾经在某些系统上对 “CPK” 模型进行实时三维操控演示并获得成功<sup>[9]</sup>, 现在, 这已经成为标准模式。

## 2. 计算化学

### 2.1 概述

近期药物设计的进展主要是基于对药物-受体相互作用的深刻理解和高质量的结构数据的不断增加。人们已能得到生物活性和分子性质之间的定量关系。计算机实验提供了一种美好的手段来得到那些通过经验方法很难得到或不可能得到的重要信息。当然, 这些理论方法需要用已有的实验数据进行适当地校正, 如果有系统性的差异, 则一开



始就可以知道。没有人会真的认为计算机分析可以取代实验工作。目前的数学模型仅仅是对复杂的物理性质和生物性质的近似估计。传统上大家的注意力都集中在受体和配体的结构匹配上,就如同锁和钥匙之间的关系。现在对锁-匙的概念已经有很大的扩展,因为小分子和受体并不是静态的结构,它们会随着环境的变化不断地改变并形成新的构象。考虑到药物动力学作用,有利的静电相互作用是十分重要的。虽然有多种途径可以产生电荷,但配体和受体之间的电荷密度和电荷的匹配还是不难计算的。非经典参数如 HOMO-LUMO 相互作用和键级之间的重要的构效定量关系 (QSAR) 都与生物活性相关。

参与药物设计的研究人员曾经受到批评,他们被认为过于重视配体与受体之间结合的能量因素而忽视了溶剂化效应、溶解效应、药物动力学效应等。药物有效性的其他方面,包括毒性都使得建模变得更加复杂而难以预测,不过值得庆幸的是我们仍在不断取得进展。在尚无更多的研究证明药物动力学和毒性模型的准确性之前,我们仍将重点放在由能量决定的药物-受体匹配的研究方法。另一方面,以化学信息为基础的方法在设计中也扮演着越来越重要的角色。

## 2.2 量子力学

量子力学的历史和概念:在 19 世纪末 20 世纪初,经典力学无法完美解释黑体辐射和原子光谱<sup>[10a,10b]</sup>。近两个世纪的时间里,牛顿力学是物理学的基石,从未受到责难和失败。19 世纪末大多数物理学家认为所有的物理原理都已经发现<sup>[10a,10b]</sup>,以后的科学家们所面临的挑战不过是使现有的理论更加完美和精确。1896 年 Wein 和 1900 年 Royleigh 试图用标准的经典方法解释黑体辐射,但当时的理论家每一尝试都无法重演当时的实验数据,这个经典物理学的失败被称为“紫外灾变”,直到 Planck 提出他的革命性建议,即振动物子需要量子化以后,一个坚实的数学方法才诞生了。

根据爱因斯坦为解释光电效应做出的波粒二象性原理,de Broglie 第一个提出了如果粒子特性与电磁辐射有关,那么物质也应当具有波状特性。他推导出了一个关于波状特性  $\lambda$  与动量  $p$  的简单关系式,大质量物体具有极微小的波长,物质的波状特性只能在原子或亚原子水平才能明显地表现出来,因为质量与波长是互为反比的关系。de Broglie 方程通常用来预测衍射模式,这一点后来被 Davisson 和 Germer 证明。

$$\lambda = \frac{h}{p} \quad (1)$$

如果物质具有波状特性,那么应该有一个基本的波动方程描述物质的运动,著名的 Schrödinger 微分方程<sup>[11a,11b,11c]</sup>,对化学家而言是量子力学基本的分子表达方式。有这样一种理念,即如果能解 Erwin Schrödinger 方程,那么一个分子系统(或任意大小的物质的任意系统)的所有物理性质都可以知道。化学甚至生物学,都可以简化为解数学方程式。Heisenberg 和 Dirac<sup>[12]</sup>各自独立发现用矩阵

代数表达量子理论更通用的公式,这两种方法同是数学上的代表<sup>[13a,13b]</sup>。

自旋的概念显然放弃了矩阵力学的方法,但它是波动力学的一个特别补充。现在,尽管量子理论有很多奇怪的、“非经典的”微观脱离常规的现象,但是它已经有效地用于解释实验现象并能在实验前准确地预测物理效应。有趣的是,许多量子理论的奠基者们后来却拒绝接受这个理论,主要因为它是一个非定数论原理。它脱离了他们自成一体的经典力学观点,这对他们来说很难接受。不过新一代的物理学家们接受了这一理论,并且将它运用于阐述化学结构。随着一系列新的概念和观察结果,物理学和化学被永久地改变了。由于 Schrödinger、de Broglie、Heisenberg、Dirac、Mulliken、Pauling 和许多其他先锋们的辉煌工作,新的量子化学诞生了。

方法学:毫无疑问,将量子力学运用于化学键的研究是一个革命性的科学设想。事实上,现代化学理论框架正是建立在量子物理的基础上。原则上,Schrödinger 方程可以解决任何化学体系问题,而且不需要任何类似或相关系统的知识,可实际上它真正解决的问题很少,主要是由于数学的复杂性,因此只能求助于近似方法,很多有影响的方法已被设计出来。通常,近似法的解决方案必须满足药物分子大小的需要。

Schrödinger 方程是解求分子问题的出发点<sup>[13a,13b]</sup>,符号  $H$  是微分运算符称为 Hamiltonian 运算符,类似于经典的 Hamiltonian 加和运算,因为它是动能和势能的总和。 $E$  代表系统总能量,波函数  $\psi$  取决于组成该系统的所有微粒的位置。Born 提议用  $|\psi|^2$  (而不是  $\psi$ ) 代表分子内粒子的分布概率<sup>[10a,10b]</sup>。Schrödinger 方程是一个特征函数,通常写成:

$$H\psi = E\psi \quad (2)$$

所有的量子化学计算都基于一个十分重要的假设,被称为 Born-Oppenheimer 近似算法,这个方法分别地用于处理原子核和电子的运动(这个方法在许多基础的量子力学课本中都有提及)。

$$(H_{el} + V_{NN})\psi_{el}(r, R) = E\psi_{el}(r, R) \quad (3)$$

原子核比电子重得多,对相对快速运动的电子而言空间位置比较固定, $V_{NN}$  是一个描述核势能的函数,它不包含在电子表达式中。这种将核运动和电子运动分别处理的方法对于量子力学的公式化是十分重要的。不过, Born-Oppenheimer 近似算法在某些情况下可能并不精确。当一个原子核的状态一旦被确定, Schrödinger 方程可以计算出该特定原子核状态下的电子能量,这个过程可以不断重复算出每一个凡能想得到的原子核的排列,这样就可以画出一幅势能的外观图,最稳定的核-电子状态具有最低的能量,我们称之为基态。当电子被提升到更高的能量状态,我们称之为激发态,但这种状态一般在药物设计应用中不是那么重要,虽然也有例外。绝大多数有关药物能量计算和设计都是在电子状态为基态的情况下进行的。

通常按照解 Schrödinger 方程的方法可把量子化学计算

分 3 大类: ①半经验法; ②逐步计算法; ③密度函数理论。

John Pople 的逐步计算法和 Walter Kohn 的密度函数理论 (DFT) 对量子化学计算做出的开拓性工作获得了 1998 年的诺贝尔化学奖。

①半经验计算法: 准确解出 Schrödinger 方程仅限于某些特殊情况, 如盒内的粒子、环上的粒子、谐波振动物、氢原子、氢分子离子等。为了使量子力学能更有效地应用于具有实际重要性的化学系统, 一些人提出了一些简化的近似方法并且多年来不断被优化。早期 John Pople 和他的工作组的工作称为 Complete Neglect of Differential Overlap (CNDO) 的近似方法<sup>[14a~g]</sup>, 这个方法的中心思想是消去式 (4) 中双电子积分的某些集或族。这些表达式的求解是量子化学计算中最复杂的数学步骤, 尤其当积分涉及 a、b、c、d 4 个不同的原子中心时, 被省略掉的积分可以通过加入经验方程和参数来补偿。数年后, Dewar 发展了一系列方法学可以接近化学的准确性<sup>[15]</sup>。这些方法学已经被整合进一系列计算机程序中, 如 MINDO (modified intermediate neglect of differential Overlap<sup>[16]</sup>)、MINDO/3<sup>[17a~c]</sup>、MNDO (moderate neglect of differential overlap)<sup>[18a~f]</sup> 和 AM1 (Austin Method 1)<sup>[19]</sup> 等。药物活性和分子轨道能量之间的关系和系数已被计算出来<sup>[20a~c]</sup>, 这些类似的近似方法被归类为半经验计算方法。

$$\psi_a^*(1)\psi_b(1)\left(\frac{1}{r_{12}}\right)\psi_a^*(2)\psi_b(2) \quad (4)$$

②从头计算法: 量子力学的第二种计算方法就是所谓的从头计算法 (*ab initio* method)<sup>[21]</sup>。就如同它的名字一样, 从头计算法使用非参数化的方法。严格来说, 这种计算方法也有很多简化的近似计算方法, 不过它们需要大量的计算, 由于没有一项积分被消去, 所以这种方法代价高昂。有大量的文献和综述阐述半经验计算法和从头计算法, 以及两种方法之间详细的比较<sup>[21a,b]</sup>。

通常波函数  $\psi$  是由分子轨道 (MO) 理论制定的, 单电子轨道可以用来近似真实的多电子波函数。每一个分子轨道都被认为是  $n$  个单电子轨道的截短了的线性组合, 这就是通常说的基本状态, 也即原来的原子轨道。这个方法就是所谓的原子轨道线性组合 (LCAO) 方法<sup>[23a,b]</sup>。波函数  $\psi$  的实际函数决定了计算的复杂性。Boys<sup>[24]</sup> 最初建议用 Gaussian Type (GT) 函数来描述 Slater Type (ST) 函数, ST 函数是真正的氢轨道的近似值。由于 GT 函数很易求解, 其应用可以大大减少计算时间。由于 GT 函数和 ST 函数不一样, 在起点没有一个尖点, 因此它们的精确性较低。而且, 随着离原点距离的增加, GT 函数迅速衰减。尽管有这些限制, GT 函数的线性组合仍可以用来使其适应 ST 函数。

Pople 发现最低能量的基态是由 3 个 GT 函数的线性组合组成, 被称为 STO-3G<sup>[25a~d]</sup>, 而且他还发现更加准确的表达式可以用更加复杂的 GT 组合得到。理论上把外层基础函数分成两个部分, 恰当地应称为裂分能级的基态。在 20 世纪 90 年代初期, 3-21G 算法成为新的标准<sup>[26a~c]</sup>, 代替了 STO-3G 公式。现在有更复杂的基态成为新的标准,

通过增添极化函数可以增加准确性, 极化函数用 (\*) 表示。其他协议方法也已被使用。例如, 6-31G\* 算法, 这是一个新的标准, 它们用 6 个原基函数处理核心电子<sup>[27a~c]</sup>。外层电子被分为两个部分, 分别由 3 个 GT 函数和 1 个 GT 函数组成。最后再把一组 6 个 d 极化函数加入到非第一排元素中<sup>[21,28]</sup>。裂分基态和极化函数的加入, 使分子计算的灵活性增加, 使原子轨道的计算更能正确地符合外部环境。氢原子的极化是通过增加一组 3p 轨道完成的, 以第二个 (\*) 表示 (如 6-31G\*\*), 更进一步的准确性则是通过将外层电子分为三组 Gaussians<sup>[29]</sup>。随着计算机技术不断提高, 6-311G\* 算法变得更经济而且更普及。

量子力学计算是用变分定理和 Hartree-Fock-Roothaan 方程来完成的<sup>[13a~b,21,30a~c]</sup>。求解 Hartree-Fock-Roothaan 方程需要反复地计算。计算每一个电子时我们认为它与所有其他电子形成的平均场相互作用, 这个过程我们称之为自洽场原理 (SCF)。这种计算过程低估了电子间的相互关系。在自然界, 电子运动相互关联, 因此电子运动时互相避开, 此外还存在扰动过程, 在进行 Hartree-Fock-Roothaan 计算时要把电子相互作用的影响考虑进去<sup>[31a~c]</sup>。大家都认为把电子的相互作用考虑进去, 尤其是涉及能量计算时, 可使得到的结果要准确得多。

③密度函数理论: 密度函数理论 (DFT) 是量子力学计算的第三种方法, 可以获得化学结构和相应的能量<sup>[32]</sup>。与其他两种方法不同的是, DFT 避免了计算多电子波函数。DFT 注重直接使用电子密度  $P(r)$ 。基础数学公式中的 Kohn-Sham 方程式是解释这个方法的基础<sup>[33]</sup>。与逐步计算理论中的 Hartree-Fock 方法不同, DFT 明确将电子相互作用考虑进去。这意味着 DFT 方法的结果可以与标准的逐步计算法的关联模型 (如二级 Møller-Plesset (MP2) 理论) 相比。

从某些方面来说, DFT 更容易理解一些, 根据 Kohn-Hohenberg 定理<sup>[34]</sup>, 当电子密度的真实值和计算值相等时, 此时能量最低。DFT 计算的一个重要结果是它们的准确性与标准的 post Hartree-Fock 方法相当; 另一结果是 DFT 方法更具实际意义, 完成一次计算所需的时间大大减少。完成 Hartree-Fock 计算所需要的时间是体系中被检测的电子数的函数, 它与  $n^4$  成正比,  $n$  为电子数。DFT 计算所需时间也是体系中电子数的函数, 但是与  $n^3$  成正比 (量子力学与分子力学计算所需时间的比较我们在后面讨论。在分子力学中, 计算时间升至  $m^2$  水平,  $m$  代表体系中原子数而不是电子数, 当大分子系统不能用量子力学时分子力学是一个吸引人而且足够精确的选择), 对药物化学家来说, DFT 法和逐步计算法计算所需的时间差别是选择用何种方法的重要因素。尽管逐步计算法有大量的文献报道, 对它的准确性和局限性也有较多的经验, 但是 DFT 法现在也有越来越多的报道。

## 2.3 分子力学

历史和概念: 另一个分子结构计算的方法是分子力学理论或力场方法, 也称为 Westheimer 方法<sup>[35]</sup>。1946 年,

发现量子力学的 20 年后发表了 3 篇文章,把经典力学概念应用于对化学有关的问题。Westheimer 研究了光学活性的联苯衍生物的消息,他的工作显示了分子力学的潜在用途,另外两篇论文则尝试解决更加复杂的问题。分子力学的基本概念深深地扎根于传统的化学理念,它认为分子是一系列质点被具有弹性的或均匀的力集合在一起的(就如同圆球被没有重量的弹簧拴在一起)。分子力学理论的中心思想,简单地说,就是球-弹簧模型,其正常的键长( $l_0$ )和键角( $\theta_0$ )产生的任何变形都会引起张力。这种几何上理想状态的偏差都会导致相应的能量的增加,一组经典方程式可用来描述弹簧的运动以及相应的能量变化。因此,文献中宝贵的化学信息使经典方程参数化,从而可以精确反映分子行为,过去用来描述能量面的势能,一般把它称为力场。在物理学中“场”这个术语通常用来指存在于空间的持续散布的某种“状态”。

一个独立的分子会由于某些特定的分子内作用力而采取不同的构象。通常认为分子的总能量( $E_{\text{总}}$ )是拉伸力( $E_s$ )、弯曲力( $E_b$ )、扭转力( $E_{\text{tor}}$ )、范德华力( $E_{\text{vdw}}$ )和静电( $E_{\text{ele}}$ )的总和。对更高级的力场,还需加入不同的相互交叉的力( $E_{\text{cross terms}}$ ),包括伸展-弯曲,扭转-伸展和扭转-弯曲等,以反映它们的运动和相互作用都交织在一起,这对结构的精确性起到很重要的作用。此外,还可加入其他项目,如氢键势能等。分子力学的基本定理之一是将总能量分解成分开的、可以鉴别的成分,见方程(5)。前面我们讨论过,任何偏离分子原来的几何形状都会伴随着分子总能量( $E_{\text{总}}$ )的增加。总能量可视作为不同能量项的总和。药物科学家都乐于把它具体化成方程式(5)。分子力学的第二个原则是方程(4)中个别的势能参数可以转移,换句话说,所用的参数可以从一个分子转移到另一个分子。分子力学在处理大量各类化合物时所取得的成功证实了这些假设。当几个分子结构放在一起考虑时,我们必然还要考虑到分子间的作用力。

$$E_{\text{total}} = E_s + E_b + E_{\text{tor}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}} + E_{\text{cross terms}} + \dots \quad (5)$$

一些纯粹理论主义者认为分子力学计算仅仅是经验方程式的集合或各能项的配制,很少具有理论上的意义<sup>[39]</sup>。但我们应当理解,分子力学不是一个带有偏见的方法<sup>[35]</sup>。如前所述,Born-Oppenheimer 近似法则允许把 Schrödinger 方程分解为电子和核两部分,这样就可以把电子运动和原子核运动分开来研究。从分子力学的观点来看,核的位置可以清楚地通过方程(2)来求解。量子力学主要是求解描述电子行为的 $\psi$ ,而分子力学显然着重于不同原子间的相互作用。电子系统则是把仔细选择的势能函数通过正确的参数化后含蓄地被考虑的。

方法学:基本的分子力学方程是把 Taylor 级数中的势能函数  $E(q_1, q_2, q_3, H, q_1)$  以  $q_0$  为平衡点展开得到方程(6),  $q$  代表通用坐标<sup>[40]</sup>。

$$E = E_0 + \sum_{i=1}^n \left( \frac{\partial E}{\partial q_i} \right)_0 \Delta q_i + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \left( \frac{\partial^2 E}{\partial q_i \partial q_j} \right)_0 \Delta q_i \Delta q_j + \frac{1}{6} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \sum_{k=1}^p \left( \frac{\partial^3 E}{\partial q_i \partial q_j \partial q_k} \right)_0 \Delta q_i \Delta q_j \Delta q_k + \dots \quad (6)$$

展开式中的第一项是常数。由于可以自由选择零势能的位置, $E_0$ 可以设定为零。第二项是复位力的负值,在平衡位点时等于零。

$$-F_i = \left( \frac{\partial E}{\partial q_i} \right) = 0 \quad (7)$$

因此,在泰勒级数的展开式中第一个非零项就是第三项,它是一个二次方程式。第三项非零项对应于 Hooke 法则中微小振动范围内的势能。这个级数展开式的第三项以后的部分可以缩短成下面的势能表达式 [式(8)~(10)]。

$$E_s = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n k_s (q_i - q_0)^2 \quad (8)$$

$$E_b = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n k_b (\theta_i - \theta_0)^2 \quad (9)$$

而且,为了使实验和计算更一致,方程式(10)中的交叉项如拉伸-弯曲势能可以包括在力场方程式中。

$$E_{\text{stretch-bend}} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m k_{ij} (q_i - q_0)(\theta_j - \theta_0) \quad (10)$$

伸展、弯曲以及各种交叉项的势能 [尤其像方程式(10)中提到的拉伸-弯曲效应] 显然是从 Taylor 级数展开而来,交叉项已经成功地加入到各种力场中以增加结构的灵活性。比如,当分子内的张角被压缩时,实验表明键会伸展以减轻由张角被弯曲而带来的张力。数学上,在价键力场内,它可以通过交叉项合并到力场势能中去。对这种张角压缩和键伸展来说,可以引入一个拉伸-弯曲项 [见式(10)]。还有其他方法可以处理这些效应。1, 3 非键原子间的外在项也可以合并,称为 Urey-Bradley 力场。MM2、MM3 和 MM4 力场<sup>[41 a-k]</sup>用拉伸-弯曲交叉项来模拟这类分子行为,在最新的分子力学处理的公式中,Allinger 和合作者们把扭转-拉伸项合并进公式,用来定量表示张力分子中键的伸展。有迹象表明,有些交叉项要比其他交叉项更重要,这意味着有些交叉项可以忽略而对结构计算不产生很大影响。此外,某些交叉项会影响计算的振动光谱。

方程(6)中的更高项也可加入到这个简单的二次方程式中,以更好地表述化学键。但这些能量项单独不足以完整描述分子的行为。

方程式(5)中第三能量项是由每一对  $i$  和  $j$  的非键相互作用相加得到。两个相对的力在这能量项中起一定的作用。两个距离相对较远的原子通过朗道色散作用 (London dispersion interaction) 相互吸引,这个作用力与  $r^{-6}$  成比例。当这两个原子十分接近时,它们之间又相互排斥,称之为范德华斥力 (van der Waals repulsion)。Leonard-Jones 6-12 势能函数 [方程式(11)] 描述了这种作用。它本来是用于稀有气体,但现在经常用在简单的力场中。量子力学指出曲线的斥力部分可能被高估了。某些力场用 6-10 势能参数来降低当两个原子相互靠近时曲线的陡度,这种情况常用于氢键作用。在力场方程式中用一个幂项代替  $r^{-12}$  可更好地重现有机结构的实验数据而且更符合量子力学的计算。势能幂函数早已为大家所知。事实上,MM2、

MM3 和 MM4 都用改进的 Hill 方程式来测定非键相互作用。

$$E_{\text{vdw}} = \sum_j \sum_k \left( \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6} \right) \quad (11)$$

很久以前人们就知道分子不是自由旋转的。1891 年, Bischoff 就提出乙烷的优势构象是交叉构象, 而且取代的乙烷旋转受到限制<sup>[43]</sup>。1922 年 Christie 和 Kenner 首先把 2, 2'-二硝基-6, 6'-二羧酸联苯拆分成两个光学异构体并证实它们的旋转受到限制<sup>[44]</sup>。Pitzer 证明如果把旋转受限的问题也考虑进去, 则计算和观察到的乙烷的熵是一致的<sup>[45a,b]</sup>。旋转受限的现象看起来很普遍, 这种现象已激发了人们极大的研究兴趣。

关于分子内的能量势垒的起因有许多推测。曾经提出 3 种建议: ①化学键之间的斥力(不包括范德华斥力); ②范德华斥力的各向异性的矫正; ③各种量子力学的解释。

内部旋转的势垒必须包括在力场中, 通常内部旋转的能量是扭转角  $\omega$  的函数, 见图 1。Klyne 和 Prelog 曾描述相连的原子 A-C-C-D 的扭转角  $\omega$ , 当 A 沿最短的弧向 D 旋转时, 我们沿 C-C 轴观察, 如果是顺时针旋转, 称之为正值。

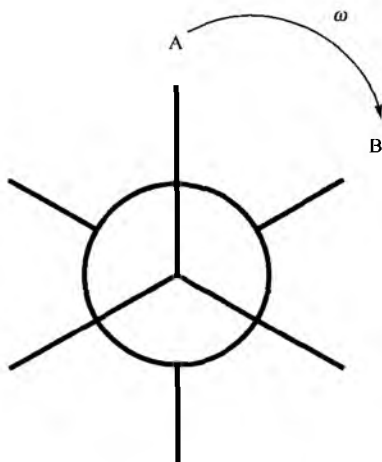


图 1 双面角表示法

扭转的势能可以看成是缩短了 Fourier 序列, 如方程式 (12) 所示, 其总数是  $n$  个独立键的二面角  $\omega$  的总和, 通常前三项已足以描述扭转的能量, 更高项可以用来增加实验数据和计算值之间的一致性。将  $V_1$  和  $V_2$  包括在内可以改善实验值和计算值的一致性<sup>[35a,47b,c]</sup>, Radom、Hehre 和 Pople<sup>[48]</sup>对扭转项给予了物理的解释,  $V_1$  代表偶极-偶极相互作用,  $V_2$  由超共轭引起,  $V_3$  来自于立体效应。

$$E_{\text{tor}} = \sum_{i=1}^n \left[ \frac{1}{2} V_{i,1} (1 + \cos \omega) + \frac{1}{2} V_{i,2} (1 - \cos 2\omega) + \frac{1}{2} V_{i,3} (1 + \cos 3\omega) + \dots \right] \quad (12)$$

其他相关的 Fourier 表达式包括相角 (phase angle), 也可用来描述势能曲线。这种方法被用在 AMBER 系统中<sup>[49a~d]</sup>, 式 (13) 中  $\Phi$  代表二面角,  $V_\phi$  是力常数,  $n$  代表倍数,  $\delta$  代表相角, 这些 Fourier 序列的表达式可以把更多

的实验或者量子力学现象合并到力场的计算中去。

$$E_{\text{tor}} = \sum_{i=1}^n V_\phi [1 + \cos(n\Phi - \delta)] \quad (13)$$

在与药物-受体相互作用有关的键合作用中, 静电作用是一个十分重要的角色。任何分子力学的静电部分其势能表达式对许多计算类型来说非常重要, 其重要性甚至超过药物-受体的相互作用。有趣的是, 最佳的公式至今尚未达成统一的意见。目前有两种基本上相似的可供选择的表达方式: ①点电荷-点电荷模式; ②偶极-偶极模式。大多数力场采用前者, 明确对分子中每一个原子分配点电荷, 并根据 Coulombic 相互作用项, 其能量随  $q_1$  和  $q_2$  两个点电荷之间的变化而变化, 其变化值为  $r^{-1}$ 。数学上, 这个表达式需要求出平方根项的值。本来当这个方法应用在生物高分子聚合物上的时候, 静电力的计算需要耗费大量的时间。一个近似方法通过把介电常数设定为  $r^{[50a,50b]}$  成功地克服了这个难题。通过这个策略,  $q_1$  和  $q_2$  随  $r^{-2}$  而变化。这样, 实际上减弱了电荷的相互作用。Allinger 力场和其他许多版本采用偶极-偶极作用方程式来处理静电相互作用, 偶极能量的变化值为  $r^{-3}$ 。对于带电的结构, 必然有偶极-电荷和电荷-电荷项。电荷和偶极不是静态的, 它们受邻近基团的影响。比较理想的是把基团的可极化性也考虑进去, 这类项或方法的应用正在不断增加, 多年来这方面一直在不断取得进展。

在分子力学计算中, 对电荷的处理一直是个中心问题。已有许多评论关于用来得到电荷的精确计算方法。一个显而易见的方法是通过量子力学的计算来得到电荷。由于量子力学导出的点电荷是建立在各种不同的总体分析的基础上, 因此它的精确度以及电荷如何在原子间分配尚未被大家所接受。一个分子内电荷的分布其最终的核对办法是把计算得到的偶极矩与实验得到的偶极矩进行比较。如果计算得到的电荷, 具有合理的电荷分布, 那么计算得到的和实验得到的偶极矩应该是非常接近的。

像前面指出的, 分子力学也被认为是经验方法, 大多数参数和方程式的设计都是为了再现实验数据(如分子几何形状、偶极矩和生成热等)。也许“经验方法”这个词已经过时了。在许多情况下, 高级逐步计算法(或 DFT)被用来增加粗略的或并不存在的实验数据(如电荷分布、构象能量和旋转能垒等)<sup>[52a~c]</sup>。最近几个工作小组将实验方法和理论方法结合起来, 把过渡态力场参数化<sup>[53a~e]</sup>。

几何学优化法: 一旦一个分子结构的三维 Cartesian 坐标和必要的参数[如原子和(或)键的类型]被确立后, 下一步就是要确定能量优势结构。不同的分子力学计算程序都内建了几何优化算法, 它们把原子的排列放在最低的能量位置。初始结构有一个与其有关的能量, 这个能量是以特定的力场为基础。每个原子都有一个净力作用在它上面, 其目的是尽可能多地减轻这些力, 使导出的势能方程值为零。

为了达到这个目的已经发展出多种方法。大多数新的方法都是围绕把分析的函数微分化, 而早期的方法是利用

数字技术尽可能把势能降到最低点(底部)。这些方法都假设势能函数运转正常而且可以微分。此外,最简单的方法称为急剧下降法(steepest descent)<sup>[54a~c]</sup>。在这个方法中,力的转移过程 $k$ ,其方向是与作用在原子上的净力平行。由于力的转移过程中矢量与作用力平行,而此力又等于势能梯度的负值,因此其方向就直线向下降。当几何构象较差,即离最低能量较远时急剧下降法是比较有效的。但当越接近最低能量构象时,其导数越来越小,这些算法的效果就不好。

另一面,共轭梯度法<sup>[55a,b]</sup>在确定最低能量结构时则更为有效。在这个方法中应用了上述优势信息。第二个以及所有后继的下降方向都是与先前的势能函数方向和当前的势能函数的负值呈线性组合。共轭梯度法通常要比急剧下降法有效,一般来说,对一个有 $N$ 维数的方方面,最小值要通过 $N$ 个步骤确定。

Newton-Raphson法是另一种最小化方法<sup>[56a,b]</sup>,它认为接近最小值的能量表面可以用一个二次函数来说明。在Newton-Raphson方法中第二导数或 $F$ 矩阵必须反转,然后再用来确定新的原子坐标。 $F$ 矩阵的反转使Newton-Raphson法需要计算机帮助。对 $F$ 矩阵反转来说,简单近似法十分有用。在MM2程序中,结合了一个改进的对角数据的Newton-Raphson程序,完整的Newton-Raphson方法可以在MM3和MM4中找到。在计算振动光谱时需要用到完整的Newton-Raphson方法。许多商业数据包为几何优化法提供各种不同的方法。

在许多情况下,都要寻找低能量构象,虽然与受体结合的药物其孤立分子必须(通常情况不是)处在最低能量状态。上面提到的这些运算方法其设计都是毫无例外地为了寻找最小值,但不一定是总最小值。当对一个复杂分子进行能量优化计算时,不可能知道是否计算得到的已是绝对最低能量构象。通常,计算机程序的设计并不去改变能垒,能量最小化后的结构是根据最初采用的起始坐标而定。因此如以相当于环己烷的船式构象的坐标作为起始点,那么力场优化器能很好地找出最接近的能量构象,在这个例子中最后得到的几何形态相当于扭船式构象(最小能量),而不是椅式构象(总最小能量)。

如上所述,具有生物活性的构象不一定是总最低能量,或者说并非全部都是最低能量<sup>[57a~c]</sup>。然而,这种简单化的假设在审查潜在的候选药物时最低能量构象是最不好的出发点。为了减轻寻找总最低能量构象的负担,设计了构象自动搜索程序。总的来说,可以通过某些判断标准,如以能量的差异和(或)范德华作用等为标准,旋转一个或多个键并测定它们的能量。通过这些搜索,可以得到一系列化合物并保存在电脑文件中,以后可以随时调用,提供给能量优化程序。构象搜索技术存在的问题是它需要大量的计算,而且,如果二面角的增量太大,可能会缺失某些低能量构象。构象搜索技术的应用后来成为Marshall所支持的活性类似物寻找的基础<sup>[57a~c]</sup>。

## 2.4 分子的模拟

动力学:分子力学计算是把分子当成静态的,时间平均分配的结构。由于随着分子自由度的增加,分子的构象数目呈幂数增加,因此对大分子的低能量构象进行系统的立体构型搜索实际上是不可能的。另一个应用在分子构象问题上的有效计算方法是分子动力学<sup>[58a~c]</sup>。分子动力学(MD)模拟法是描述用牛顿运动方程式的积分得到的某一体系的轨线(构型作为时间的函数)。其中作用在粒子 $i$ 上的力以 $F_i$ 表示,由MD计算出来的空间轨线通过分析可得到一个平衡的和动力学的信息。见下列方程<sup>[14a~g,15]</sup>,其中 $r$ 代表位置, $E$ 代表势能。如果这个技术展开后得到一个足够理想的力场,那么这个技术比分子力学计算本身更具某些优越性,因为这样溶剂化作用可以被测定,不同的能量最小值也可被确定。

$$\frac{d^2 r_i}{dt^2} = m_i^{-1} F_i \quad (14)$$

$$F_i = -\frac{\partial}{\partial r_i} E(r_1, r_2, r_3, \dots, r_N) \quad (15)$$

Monte Carlo模拟法:Monte Carlo(MC)<sup>[59]</sup>法与大规模演算相结合的方法已经用于构象搜索<sup>[60]</sup>,药物-受体配合<sup>[61]</sup>和自由能扰动计算(见下一节)<sup>[62]</sup>。MC法是以统计力学原理为基础,导出一个整体的分子状态并加以评估。用大规模演算的MC方法寻找可能存在的构象其过程综合如下。第一步,用一个适当的分子力学势能计算出初始的分子几何形状;第二步,对系统施加一个小的任意的骚扰,即把一个原子从原来位置送到另一个位置;第三步,重新计算出分子新状态的能量。如果得到的能量比原来更低,那么这次移动得到认可,新的构型或构象(取决于溶剂还是溶质受到扰动)储存下来备用。如果能量比原来的高,那么有两种可能:被接受或被拒绝,这取决于Boltzmann因子( $e^{-\Delta E/RT}$ ),其中 $\Delta E$ 代表初始状态和最终状态之间的能量差( $E_2 - E_1$ ), $k$ 是Boltzmann常量, $T$ 是温度。有时候必须接受某些较高能量状态的构型或构象以免会受限于局部最低能态。上述过程要重复多次直到达到最低自由能。MC法和MD模拟法一样,可以用来处理溶剂化过程。

自由能扰动:药物化学家面临的挑战之一就是预测(并最终制备并测试)对靶受体位点具有高亲和力和效能的化合物。知道成键的自由能后, $\Delta G_{\text{binding}}^0$ 对一系列具有相关结构的化合物来说是一个很重要的信息。不幸的是,要测定许多不同类似物的 $\Delta \Delta G_{\text{binding}}^0$ 需要通过实验。自由能扰动计算(FEP)的优点是整个热力学周期其自由能的变化为零。通过测量平衡常数 $K_2$ 和 $K_1$ ,可以根据方程式(16)得到实验的 $\Delta \Delta G_{\text{binding}}^0$ 。从图2可以发现,如果 $D_1$ 可以转变为 $D_2$ , $DR_1$ 可以转变为 $D_2$ ,那么我们可以得到一个关系式: $\Delta^* G_2^0 - \Delta G_1^0$ 等于 $\Delta G_2^0 - \Delta G_1^0$ [方程式(17)]。上述关系式可以用MC法或者MD法模拟计算。

$$\Delta \Delta G_{\text{binding}}^0 = \Delta G_2^0 - \Delta G_1^0 = -RT \ln \frac{K_2}{K_1} \quad (16)$$

$$\Delta G_2^0 - \Delta G_1^0 = \Delta G_2^0 - \Delta G_1^0 \quad (17)$$

FEP 法是一个较大的概念上的成就,对药物设计来说是一个重要的分支。不幸的是,两个主要问题阻碍了这个方法除学术研究外,在常规药物设计上的应用。首先,转变必须是微小的和渐进的,而且在变化过程中必须进行计算;其次,该方法即使在高速工作站上运行也需要进行大量的运算。不过,它仍是一个很有吸引力的计算方法。

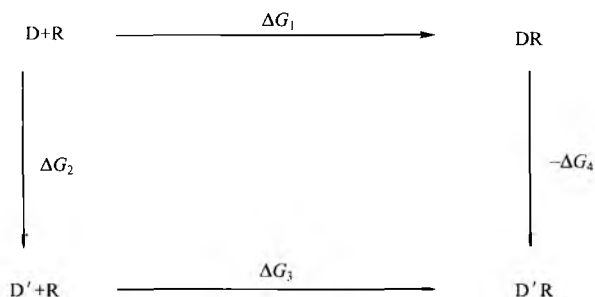


图2 自由能扰动(FEP)图(显示药物D和D'与受体R结合产生DR和DR'受体复合物和自由能的变化)

## 计算机辅助药物设计(CADD)

计算化学应用于药物设计主要依靠两个主要的三维数据实验资料:①X射线衍射晶体学分析;②核磁共振波谱学。

小分子、蛋白质和核酸的高精度X射线晶体学研究经常有文献报道<sup>[64]</sup>。这些数据提供原子在分子结构中的空间位置(三维坐标)。由于X射线是由电子密度衍射,所以氢原子的定位通常不能像重的原子那样精确。通常晶体学家可以提供完整的结构。在蛋白质X射线晶体学中,蛋白质的氨基酸顺序可以帮助晶体学家确立原子位置和成键的模型<sup>[65]</sup>,建立在三维电子密度基础上的图像,使得观察大分子结构变得更容易。有趣的是,用计算机方法得到的结构与电子密度图实验推导出的结构是一致的。

NMR技术也被用于测定三维大分子的构象。高解析度NMR结合脉冲实验可以提供蛋白质链的连接信息。原子核的Overhauser效应(NOE)的信号对原子间的空间距离很灵敏,可用于确定蛋白质的折叠形式。把蛋白质链的连接数据,由NOE确定的空间距离以及氨基酸顺序等信息结合起来,可以为构建大分子模型提供重要的几何形态的信息,还可以与距离几何学的数学技术相结合建立大分子模型。

距离几何学技术提供的一系列蛋白质或者核酸的三维结构数据可以满足达到这种几何形态的要求。距离几何学计算结合分子动力学计算所得到的的小分子蛋白的三维结构,其精确度可与X射线晶体学相媲美<sup>[66]</sup>。当蛋白质不能得到结晶或者结晶不适合X射线衍射时,可以把NMR,分子力学和分子动力学结合起来得到蛋白质的三维结构<sup>[67]</sup>。

利用计算工具帮助计算化学和药物化学家寻找新的候选药物,CADD这个术语有两种含义。第一,药物化学家试图说明药物的生物活性与直接测得的物理化学参数或特

征之间的主要统计学联系,即所谓的构效定量关系(QSAR)<sup>[68]</sup>。其中心思想是化合物显示的生物活性是基于其结构特征的基础上。这样就可以把有关的生物活性与各种主要的参数联系起来,即生物活性是疏水性,静电力和立体阻力的函数[式(18)]。

$$\text{生物活性} = f(\text{疏水性}) + f(\text{静电力}) + f(\text{立体阻力}) \quad (18)$$

Corwin Hansch首先开拓了QSAR领域<sup>[69]</sup>。二维和三维的QSAR方法(2-D QSAR和3-D QSAR)已经广泛用于有关生物活性的问题,三维QSAR随着比较分子场分析方法(CoMFA)<sup>[70]</sup>的引入和类似方法的商业化而逐渐流行起来。

CADD的第二个方面则更与计算机建模有关。可以称之为“药效基团的绘制”,它是通过受体或小分子的结构信息(结合计算化学技术)来推导新的候选药物。药效基团最先被Paul Erlich定义为一个分子其中与引起特殊药理作用有关的一些重要部位。这种方法也被称为基于受体基础上的药物设计,这里使用了一个十分广义的词汇:受体<sup>[71]</sup>,它扩展了经典药理学的定义。在这个方法中,一个受体或者一个受体的模型作为药物设计的靶标,这个受体模型可以是X射线的晶体学结构也可以是由一个类似的蛋白质的X射线结构建立起来的模型。这些可以被视为识别位点,因为当一个药物靠近并与受体结合时,受体能够接受药物的某些几何模式和它的电荷密度。随着计算工具和X射线结构测定工具的普及,药效基团以二维和三维形式建模已成为被广泛应用和非常尖端的方法。

早期的药效基团模型是以几组六边形的环代表一个平面<sup>[72]</sup>,将这些环按照2D的方式来描述受体官能团之间的相对的三维关系。如果在一定的方向不存在受体表面,那么这个区域就称之为“原始体积耐受区域”,代表酶的活性部位的未知而复杂的三维区域<sup>[73]</sup>。另一个药效基团模型的例子后来由cheng<sup>[74a,b]</sup>提出的N O O三角形假说,他用简单的几何关系来描述活性抗癌药的构象,这个假说运用早期的小分子X射线晶体的研究结果和分子的实体模型的测量数据来推断活性抗癌药所需要的几何形状。他是利用一个碱性氮原子和两个能形成氢键的氧原子连接起来的空间距离。由于使用了三维数据,这种药效基团模型要比以前的模型更复杂。

最近,可用于药效基团建模和三维数据库搜索的CADD软件已有供应,如MSI(www.msi.com)的催化程序。使用像这样的程序,只是诸多类似程序中的一个,已使得药物设计和寻找的计算搜索战略变成越来越复杂。输入程序的是一组分子的结构和其活性,然后程序会对这组分子进行分析并形成一套可以三维表示的药效基团的假设。这种假设可被触媒用来寻找与药效基团相匹配的分子数据。

图3是用触媒产生的三维药效基团的假设实例,这是一个三维药效基团图的二维切面。药效基团之间的距离与计算机数据对象结合起来。蓝色平面代表了芳香环平面的位置,这个芳香环具有必需的垂直矢量使芳香环系统能在

新的分子内定位。较小的绿色球,大小为 $1.7\text{\AA}$ ,代表氢键受体;较大的球代表突出点,是一个可能的氢原子供体的位置,其大小为 $2.3\text{\AA}$ ;红色球代表一个半径为 $1.5\text{\AA}$ 的正电荷基团。这一种药效基团的假设可以用来进行三维的探索,而且,在很多情况下证明在寻找与原始输入的数据有关的分子时很有用。

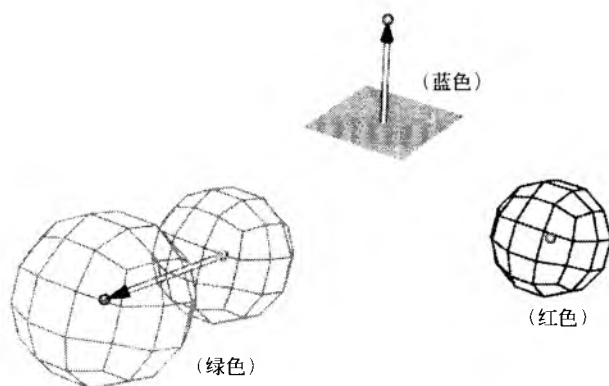


图3 在催化剂中产生的三维药效基团

如前所述,X射线衍射晶体学可以为从事根据化学结构来设计药物的药物化学家和计算化学家提供大量的三维空间信息。两个研究机构<sup>[76,77]</sup>编纂并无偿提供数据。这些数据是X射线晶体结构数据的主要来源。除了数据库本身的信息外,这些组织的存在和他们为晶体学数据规定的计算机数据形式可以为科学家们工作的标准化提供便利。商

业化的分子模型软件包为图形显示程序和这些数据之间在界面的相互关系提供了清晰的图像。这两个数据库的内容是根据分子的大小来划分。大分子聚核苷酸的晶体结构和与聚核苷酸结合的药物结构存储在蛋白质数据库(PDB <http://www.rcsb.org/pdb/>)和剑桥档案中。这种划分是主观的。一般较大的分子结构都储存在PDB数据库。

剑桥晶体数据中心(<http://www.ccdc.cam.ac.uk/>)<sup>[76]</sup>目前提供超过200 000个小分子结构的计算机数据。除了这个巨大的数据库外,剑桥工作组还发展了一套适于系统结构搜索和检索的程序,这个程序最独一无二的方面是数据库可以搜索所需的三维结构。

随着大分子晶体学的快速发展,现在PDB<sup>[77]</sup>可以提供大约12 600个大分子的核磁数据或晶体结构。这些虽然不能代表所有大分子结构,但的确代表了绝大部分。许多主要的科学杂志在发表文章的同时将大分子晶体数据存入PDB。除了蛋白质结构和经典的晶体结构如血红蛋白和溶菌酶外,这个数据库还包括很多具有代表性的酶,这些酶都可能是化学治疗的良好靶点。

表1显示了CADD在制药工业的成功范例。从PDB数量可看出已对靶蛋白的探索进行了大量的工作。在这种情况下对它的唯一评价是进入临床试验的化合物数量,因为大约80%的候选药物不能通过临床试验,而且其中很多化合物最终不能进入到市场上。

表1 CADD的成功范例

靶向	研究组	方法	结果
凝血酶(105)	Hoffman-La Roche	X射线,模型( $2.8\text{\AA}$ )	临床候选
凝血酶	Biogen Inc.	X射线,模型	Ⅲ期
神经氨酸酶(53)	Monash University/GW	GRID研究,X射线( $2.4\text{\AA}$ )	Ⅱ期 <sup>1)</sup>
嘌呤核苷磷酸化酶(16)	BioCryst	分子机制X射线( $1.5\sim 2.0\text{\AA}$ )	Ⅱ期
胸苷酸合成酶(66)	Agouron	模型X射线( $1.9\sim 2.5\text{\AA}$ )	临床候选
碳酸酐酶(111)	Merck	多重X射线( $1.9\sim 2.5\text{\AA}$ )	上市
鼻病毒-14(28)	Sterling Winthrop	扫描X射线( $2.9\text{\AA}$ )	Ⅰ期
糖醛还原酶(13)	Ayerst	分子轨道QSAR( $1.8\sim 2.3\text{\AA}$ )	上市

1) 在PDB中

自动X射线衍射仪和快速的计算机工作站相结合的方法已商业化,这种方法可以用来快速得到蛋白衍射数据。X射线衍射的区域检测仪可以快速收集更大数量的衍射数据,一些不稳定的不能用老的慢的技术分析的化合物可以用这个方法。新的自动化的常规软件是使用直接的方法,这样使一些公司可以为解决晶体结构问题提供商业化服务。世界上越来越多的使用同步加速器可以快速收集X射线数据。这些技术已经广泛的运用于制药工业。国际性企业如IMCA可以为药物寻找提供有价值的晶体学资源。(<http://www.imca.aps.anl.gov/>)

## 计算机辅助药物设计目前工艺水平

### 1. 理论

最近为了探讨CADD方法介绍了一个有趣的模型<sup>[78]</sup>,为CADD的实际应用提供了一系列指南。它将药物研究项目需要研究的化合物数量与现有的与目标药物有关的信息的数量联系起来。更多的与目标药物有关的信息,意思是在药物设计过程中尽量减少需要研究的化合物数量,而且也让计算化学家改变他们所使用的计算技术。这个关系在



图 4 中得到生动的体现。

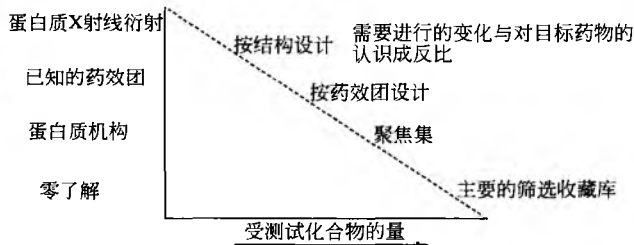


图 4 信息与所需合成的化合物量之间的关系图

如果蛋白质 X 射线衍射晶体结构图形已经描绘出来,那么就可以直接应用 CADD 方法,这包括通过使用结构信息将晶体结构作为设计的靶标。接下去用新的、与蛋白质结合更有效的其他结构验证。这些结合后的结构可以在电脑里修饰,然后用前面讨论过的各种方法来评估。只有那些看起来真正有可能成为配体的化合物才加以合成。另一方面,如果有关目标药物的信息很少,如只有蛋白质顺序而无结构特征和一系列化合物具有不同程度的生物活性。那么上面讨论的药效基团模型和假说方法就可以派上用场。利用触媒建立三维药效基团模型,这种药效基团模型可以用来在结构库中寻找化学结构。

另一种极端情况,你不知道蛋白质结构,没有候选配体,连 X 射线衍射结构也不知道,那么可以采用大规模收集化合物进行大量筛选的方法,或把几种资料库结合起来进行筛选。这个技术可以用自动化和微型化分析方法来寻找有可能与受体结合的化合物。

## 2. 方法学

根据分子模型和 X 射线晶体学设计酶抑制剂。

一个非常成功的按照化学结构进行药物设计的实例是 HIV 蛋白酶抑制剂的开发<sup>[79a,b]</sup>。这些工作是由 Dupont Merck 药物公司的化学家们实施的。近十年已有大量的有关 HIV 蛋白酶结构的数据<sup>[80]</sup>。

HIV 蛋白酶是一种由 HIV 病毒基因编码的蛋白质之一,它也是 HIV 病毒复制循环表达的组成部分。HIV 蛋白酶含活性天冬氨酸残基的称为天冬氨酸蛋白酶。HIV 病毒基因一旦与宿主基因结合即编成多聚蛋白质。蛋白酶使多聚蛋白的特定部位裂解成特殊的蛋白质,这种蛋白质让病毒得以生长成熟。HIV 蛋白酶是一个对称的二聚体,每个单体含有 99 个氨基酸。图 5 是一个蛋白酶的结构图,活性部位用标记标出。这一区域与蛋白质底物的结合有关。它能识别并与六肽结合然后将不稳定的中间肽键水解。

图 6 是根据 X 射线研究得到的 HIV 蛋白酶抑制剂的结合方式,在图中可以看到 HIV 蛋白酶的两个氨基酸,甘氨酸 49 (GLY 49) 和异亮氨酸 50 (ILE 50) 以棒状表示。蛋白质活性部位的其余部分以线表示。由于该蛋白酶是对称的二聚体结构,所以每一个二聚体的肽段都被表示出来,但只有一对肽段用标记标出。图示也指出了一个结合在酶活性部位的水分子,普遍认为该水分子帮助肽键的

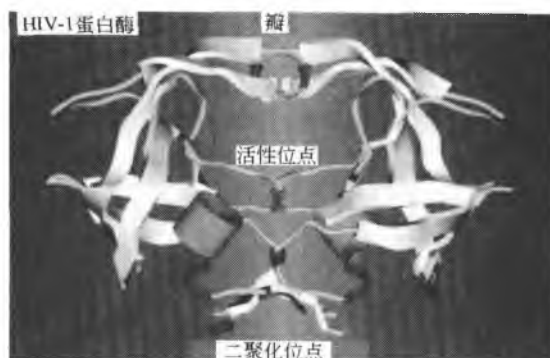


图 5 HIV 蛋白酶结构,其活性部位用标记标出

水解。蛋白质中的 NH 基团与水分子结合。抑制剂中的羰基部分也与这个水分子相互作用。晶体结构也显示了模拟肽 HIV 蛋白酶抑制剂 I 的位置,和 4 个芳香环与酶匹配的方式。

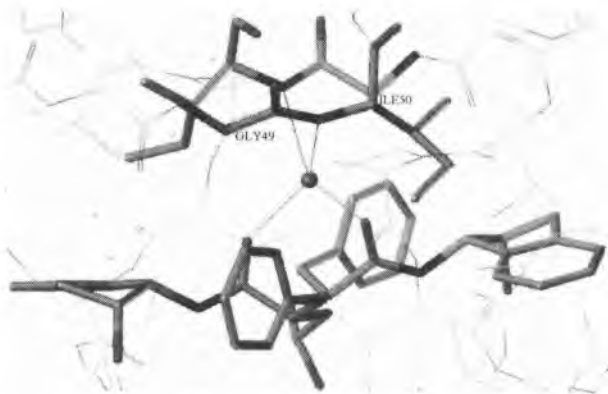
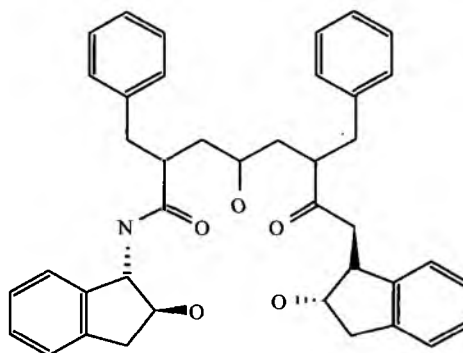


图 6 HIV 蛋白酶和蛋白酶抑制剂的 X 射线结构图 (取自 PDB)



蛋白酶抑制剂的结构式

图 7 中的第二个结构是它的晶体结构 (file lajx)。在结构设计时,推测水分子可以被抑制剂的其他官能团取代,所以合成了环脲结构化合物 2<sup>[81]</sup>,化合物 2 中,水分子的氧原子被羰基的氧原子取代,羰基又与主结构中的 NH 基相互作用。这种情形与水分子相似。它是具有 4 个芳香基



团的环脉结构。

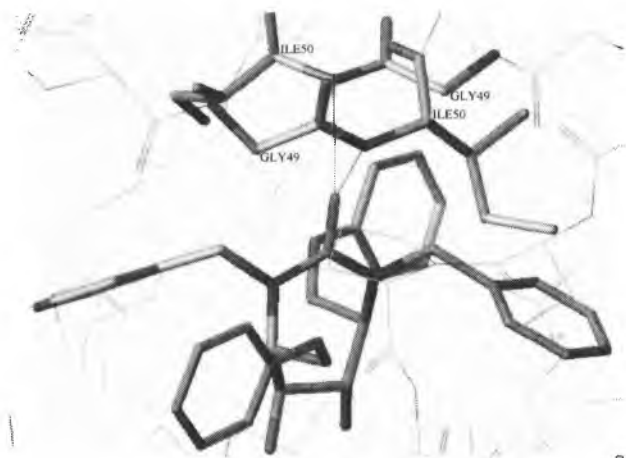
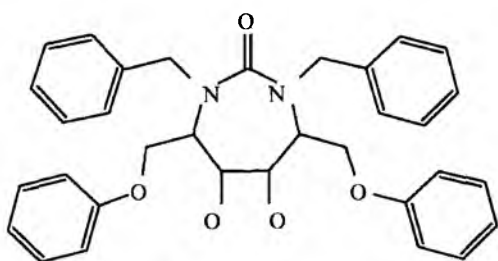


图7 环状 HIV 蛋白酶抑制剂的 X 射线结构图  
(羧基模拟水分子)



化合物 2 的结构式

### 3. 设备

目前,分子模型硬件集中于两个计算机系统。具有高解析度图形显示系统的高端工作站主要是 Silicon 图形模型,它使用 UNIX 操作系统。这个操作系统占据了市场的主流近十年之久。快速成长的竞争对手是标准的 INTEL 芯片 PC 机。它使用 windows 或者 windows/NT 操作系统。医药工业的绝大多数科学家支持使用 windows/NT 系统。计算化学软件销售商们正迅速努力把市场转移到这个领域中来。

尽管 UNIX 的 Linux 版本备受青睐,它还没有在计算化学市场占多大份额,但未来高端计算机可能会转向对桌面工作站传送清晰的 UNIX 版本。

### 4. 软件

分子模型和计算方法正规化的迫切性与计算机硬件,计算机图形学和软件等紧密相关。具有更复杂的数字运算能力的设备的出现使科学家可以计算越来越大的分子的性质。随着超级计算机的出现,被水分子包围的生物分子动力学计算变得很普通。

软件的发展也是惊人的。以前药物科学家们为得到能表达三维透视图的彩色图片而高兴,而现在的软件包可使

科学家很方便地将一系列结构叠加起来,并且可以实时地旋转。现在出现很多公司专门从事设计和推广模型软件。这些软件大都是起源于大学的研究室。尽管很多软件包都具有类似的特性和功能,但都有其独特的风格,这反映了开发者们的哲学观点。

## 总结和未来趋势

化学家长期来习惯于球棍的机械模型,分子模型的概念很多年来都为药物化学家所赏识。在计算机模型前的时代 Pauling、Watson 和 Crick 证实了这些模型的实用性。量子力学和分子力学的数学公式化多年前就已提出,但是由于缺乏足够的计算能力或手段使得它们的实际应用受到限制。现在建模工作大规模开展与大功能计算机和运算方法的出现有直接关系。现在,可以对越来越大的分子进行精确的计算。更加逼真的模拟方法包括溶剂化作用都可以得到处理,分子结构可以在计算机终端上很容易地显示并操控。高速桌面工作站、互联网和基因的开创都产生了全面的影响。

随着计算机辅助药物设计方法越来越强大,越来越容易得到,计算化学家、药物化学家和药理学家都面向一个令人激动的未来。每一个主要的医药公司都在这些新工具上进行投入。有关这方面的技术,作用范围和局限性的认识都在不断增加。毫无疑问方法学和计算方法也将不断取得进展。不过生物学过程,尤其在分子水平上,我们还所知甚少,许多挑战都还存在。理论和实验工作仍然与药物研究和开发紧密地联系在一起。

### 参考文献

1. Wooden Ball-and-Stick Models Attributed to John Dalton. The Science Museum, Exhibition Road, South Kensington; London, England.
2. Watson, J. D. The Double Helix; New American Library; New York, 1968.
3. Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Nature 1953, 171, 964—967.
4. Gordon, A. J. J. Chem. Educ. 1970, 47, 30—33.
5. Koltun, W. Biopolymers 1965, 3, 665—679.
6. Harvard Apparatus Inc.; South Natick, Mass, 01760.
7. Johnson, C. K. Report No. ORNL-3794, 1970 Oak Ridge National Laboratory; Oak Ridge, Tennessee.
8. Connolly, M. L. Science 1983, 221, 709—713.
9. Fuchs, H.; Goldfeather, J.; Hultquist, J. P.; Spach, S.; Austin, J. D.; Brooks, F. P., Jr.; Eyles, J. G.; Poulton, J. Computer Graphics 1985, 19, 111—120.
- 10a. D'Abro, A. The Rise of the New Physics; Its Mathematical and Physical Theories; Dover; New York, 1951.
- 10b. Pauling, L.; Wilson, E. B., Jr. Introduction to Quan-

- tum Mechanics, With Applications to Chemistry; McGraw-Hill; New York, 1935.
- 11a. Schrödinger, E. Ann. Phys. 1926, 79, 361.
- 11b. Schrödinger, E. Ann. Phys. 1926, 80, 437.
- 11c. Schrödinger, E. Ann. Phys. 1926, 81, 109.
12. Heisenberg, W. Z. Phys. 1925, 33, 879—893.
- 13a. Schrödinger, E. Ann. Phys. 1926, 79, 734.
- 13b. Eckart, C. Phys. Rev. 1926, 28, 711.
- 14a. Pople, J. A.; Beveridge, D. Approximate Molecular Orbital Theory; McGraw-Hill; New York, 1970.
- 14b. Dewar, M. J. S. The Molecular Orbital Theory of Organic Chemistry; McGraw-Hill; New York, 1969.
- 14c. Murrell, J. N.; Harget, A. J. Semiempirical Self-Consistent-Field Molecular Orbital Theory of Molecules; Wiley-Interscience; London, 1972.
- 14d. Pople, J. A.; Santry, D. P.; Segal, G. A. J. Chem. Phys. 1965, 43, S129—S135.
- 14e. Pople, J. A.; Segal, G. A. J. Chem. Phys. 1965, 43, S136—S149.
- 14f. Pople, J. A.; Segal, G. A. J. Chem. Phys. 1966, 44, 3289—3296.
- 14g. Pople, J. A.; Beveridge, D. L.; Dobosh, P. A. J. Chem. Phys. 1967, 47, 2026—2033.
15. Dewar, M. J. J. Mol. Struct. 1983, 100, 41—50.
16. Dewar, M. J. S.; Thiel, W. J. Am. Chem. Soc. 1977, 99, 4899—4907.
- 17a. Bingham, R. C.; Dewar, M. J. S.; Lo, D. H. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 1285—1293.
- 17b. Bingham, R. C.; Dewar, M. J. S.; Lo, D. H. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 1294—1301.
- 17c. Bingham, R. C.; Dewar, M. J. S.; Lo, D. H. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 1302—1306.
- 17d. Bingham, R. C.; Dewar, M. J. S.; Lo, D. H. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 1307—1310.
- 17e. Dewar, M. J. S.; Lo, D. H.; Ramsden, C. A. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 1311—1318.
- 18a. Dewar, M. J. S.; Thiel, W. J. Am. Chem. Soc. 1977, 99, 4907—4917.
- 18b. Dewar, M. J. S.; McKee, M. L. J. Am. Chem. Soc. 1977, 99, 5231—5241.
- 18c. Dewar, M. J. S.; Rzepa, H. S. J. Am. Chem. Soc. 1978, 100, 777—794.
- 18d. Davis, L. P.; Guidry, R. M.; Williams, J. R.; Dewar, M. J. S.; Rzepa, H. S. J. Comput. Chem. 1981, 2, 433—445.
- 18e. Dewar, M. J. S.; McKee, M. L.; Rzepa, H. S. J. Am. Chem. Soc. 1978, 100, 3607.
- 18f. Dewar, M. J. S.; Healy, E. J. Comput. Chem. 1983, 4, 542—551.
19. Dewar, M. J. S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. J. Am. Chem. Soc. 1985, 107, 3902—3909.
- 20a. Richards, W. G. Quantum Pharmacology; Butterworths; London, 1984.
21. Kier, L. B. Molecular Orbital Theory in Drug Research; Academic Press; New York, 1984.
22. Martin, Y. C. Quantitative Drug Design; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1978.
23. Hehre, W. J.; Random, L.; Schleyer, P.; Pople, J. Ab Initio Molecular Orbital Theory; John Wiley & Sons; New York, 1986.
24. Pople, J. A. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 5306—5308.
25. Hehre, W. J. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 5308—5310.
26. Dewar, M. J. S. J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 6951.
27. Roberts, J. D. Molecular Orbital Calculations; Benjamin/Cummings; Reading, Massachusetts, 1961.
28. Streitwieser, A., Jr. Molecular Orbital Theory for Organic Chemists; John Wiley & Sons; New York, 1961.
29. Boys, S. F. Proc. R. Soc. (London A) 1950, 200, 542—554.
30. Hehre, W. J.; Stewart, R. F.; Pople, J. A. J. Chem. Phys. 1969, 51, 2657—2664.
31. Hehre, W. J.; Ditchfield, R.; Stewart, R. F.; Pople, J. A. J. Chem. Phys. 1970, 52, 2769—2773.
32. Pietro, W. J.; Levi, B. A.; Hehre, W. J.; Stewart, R. F. Inorg. Chem. 1980, 19, 2225—2229.
33. Pietro, W. J.; Blurock, E. S.; Hout, R. F., Jr.; Hehre, W. J.; DeFrees, D. J.; Stewart, R. F. Inorg. Chem. 1981, 20, 3650—3654.
34. Binkley, J. S.; Pople, J. A.; Hehre, W. J. J. Am. Chem. Soc. 1980, 102, 939—947.
35. Gordon, M. S.; Binkley, J. S.; Pople, J. A.; Pietro, W. J.; Hehre, W. J. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 2797—2803.
36. Dobbs, K. D.; Hehre, W. J. J. Comput. Chem. 1986, 7, 359—378.
37. Hehre, W. J.; Ditchfield, R.; Pople, J. A. J. Chem. Phys. 1972, 56, 2257—2261.
38. Binkley, J. S.; Pople, J. A. J. Chem. Phys. 1977, 66, 879—880.
39. Francel, M. M.; Pietro, W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S.; Gordon, M. S.; DeFrees, D. J.; Pople, J. A. J. Chem. Phys. 1982, 77, 3654—3665.
40. Carlsen, N. R. Chem. Phys. Lett. 1977, 51, 192—196.
41. Krishnan, R.; Frisch, M. J.; Pople, J. A. J. Chem. Phys. 1980, 72, 4244—4245.
42. Hartree, D. R. Proc. Cambridge Philos. Soc. 1928, 24, 105.

43. Roothaan, C. C. J. *Rev. Mod. Phys.* 1951, 23, 69.
44. Hall, G. G. *Proc. roy. soc. (london a)* 1951, 205, 541.
45. Møller, C.; Plesset, M. S. *Phys. Rev.* 1934, 46, 618—622.
46. Pople, J. A.; Binkley, J. S.; Seeger, R. *Int. J. Quantum Chem. Simp.* 1976, 10, 1—19.
47. Pople, J. A.; Seeger, R.; Krishnan, R. *Int. J. Quantum Chem. Quantum Chem. Simp.* 1977, 11, 149—163.
48. Krishnan, R.; Pople, J. A. *Int. J. Quantum Chem.* 1978, 14, 91—100.
49. Schlegel, H. B. *J. Chem. Phys.* 1982, 77, 3676—3681.
50. Parr, R. G.; Yang, W. *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University Press: Oxford, 1989.
51. Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev.* 1934, A140, 1133—1138.
52. Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev.* 1964, B136, 864—871.
53. Burkert, U.; Allinger, N. L. *Molecular Mechanics*; American Chemical Society: Washington, DC, 1982.
54. Westheimer, F. H.; Mayer, J. E. *J. Chem. Phys.* 1946, 14, 733—738.
55. Hill, T. L. *J. Chem. Phys.* 1946, 14, 465.
56. Dostrovsky, I.; Hughes, E. D.; Ingold, C. K. *J. Chem. Soc.* 1946, 173—194.
57. Boyd, D. B. *Drug Inf. J.* 1983, 17, 121—131.
58. Goldstein, H. *Classical Mechanics*; Addison-Wesley: Reading, Massachusetts, 1981.
59. Allinger, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 8127, and subsequent papers; MM2.
60. Allinger, N. L.; Yuh, Y. H.; Lii, J.-H. *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 8551, MM3.
61. Lii, J.-H.; Allinger, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 8566.
62. Lii, J.-H.; Allinger, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 8576.
63. Bowen, J. P.; Allinger, N. L. *Molecular Mechanics: The Art and Science of Parameterization. Reviews Computational Chemistry*; Lipkowitz, K., Boyd, D., Eds.; VCH: New York, 1991; 2, 81—97.
64. Allinger, N. L.; Chen, K. S.; Lii, J.-H. *J. Comp. Chem.* 1996, 17, 642, MM4.
65. Nevins, N.; Chen, K. S.; Allinger, N. L. *J. Comp. Chem.* 1996, 17, 669.
66. Nevins, N.; Lii, J.-H.; Allinger, N. L. *J. Comp. Chem.* 1996, 17, 695.
67. Nevins, N.; Allinger, N. L. *J. Comp. Chem.* 1996, 17, 730.
68. Allinger, N. L.; Chen, K. S.; Katzenellenbogen, J. A.; Wilson, S. R.; Anstead, G. M. *J. Comp. Chem.* 1996, 17, 747.
69. Bowen, J. P. *New Vistas in Molecular Mechanics Calculations. Drug Design*; Charifson, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 495—538.
70. Lennard-Jones, J. E. *Proc. Roy. Soc. (London, A)* . 1924, 106, 463.
71. Bischoff, C. A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 1890, 23, 620, 1891, 24, 1074, 1086; 1891, 26, 1452.
72. Christie, G. H.; Kenner, J. J. *Chem. Soc.* 1922, 121, 614—620.
73. Kemp, J. D.; Pitzer, K. S. *J. Chem. Phys.* 1936, 4, 749.
74. Kemp, J. D.; Pitzer, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* 1937, 59, 276—279.
75. Pitzer, R. M. *Acc. Chem. Res.* 1983, 16, 207—210.
76. Bartell, L. S. *J. Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 3279—3282.
77. Allinger, N. L.; Hindman, D.; Honig, H. J. *Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 3282—3284.
78. Radom, L.; Hehre, W. J.; Pople, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* 1972, 94, 2371—2381.
79. Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S., Jr.; Weiner, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 765—784.
80. Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A. *J. Comp. Chem.* 1986, 7, 230—252.
81. Pearlman, A.; Case, D. A.; Caldwell, J. W.; Ross, W. S.; Cheatham, T. E.; Debolt, S.; Ferguson, D.; Seibel, G.; Kollman, P. *Comput. Phys. Commun.* 1995, 91, 1.
82. Cornell, D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5179.
83. Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S., Jr.; Weiner, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 765—784.
84. Brooks, B. R.; Bruccoleri, R. E.; Olafson, B. D.; Stales, D. J.; Swaminathan, S.; Karplus, M. *J. Comput. Chem.* 1983, 4, 187—217.
85. Buyong, M.; Lii, J.-H.; Allinger, N. L. *J. Comp. Chem.* 2000, 21, 814—825.
86. Bowen, J. P.; Pathiaseril, A.; Profeta, S., Jr.; Allinger, N. L. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 5162—5166.
87. Bowen, J. P.; Allinger, N. L. *J. Org. Chem.* 1986, 51, 1513—1516.
88. Goldsmith, D. J.; Bowen, J. P.; Quamhiyeh, E.; Still, W. C. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 951—953.

J

89. Bowen, J. P.; Allinger, N. L. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 1830—1834.
90. Bowen, J. P.; Allinger, N. L. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 2937—2938.
91. Bowen, J. P.; Reddy, V.; Patterson, D., Jr.; Allinger, N. L. *J. Org. Chem.* 1988, 53, 5471—5475.
92. Green, M. M.; Boyle, B. A.; Vairamani, M.; Mukhopadhyay, T.; Saunders, W. H., Jr.; Bowen, P.; Allinger, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 2381—2387.
93. Spellmeyer, D. C.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 959—974.
94. Dorigo, A. E.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 3698—3708, (corrections), 1988, 110, 4874.
95. Rudolf, K.; Hawkins, J. M.; Loncharich, R. J.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* 1988, 53, 3879—3882.
96. Wu, Y.-D.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 908.
97. Jacoby, S. L. S.; Kowalik, J. S.; Pizzo, J. T. *Iterative Methods for Nonlinear Optimization Problems*; Prentice Hall, Englewood Cliffs; New Jersey, 1972.
98. Williams, J. E.; Stang, P. J.; Schleyer, P. V. R. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1968, 19, 531.
99. Wibeg, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 1070—1078.
100. Fletcher, R.; Reeves, C. M. *Comput. J.* 1964, 7, 149.
101. Fletcher, R.; Powell, M. J. D. *Comput. J.* 1963, 6, 163.
102. Jacoby, S. L. S.; Kowalik, J. S.; Pizzo, J. T. *Iterative Methods for Nonlinear Optimization Problems*; Prentice Hall, Englewood Cliffs; New Jersey, 1972.
103. Ermer, O. *Struct. Bonding (Berlin)* 1976, 27, 161.
104. Marshall, G. R. *Medicinal Chemistry VI, Proceeding of the 6th International Symposium on Medical Chemistry*. Sinkin, A., Ed.; Cotswold Press; Oxford, 1979; 225—235.
105. Marshall, G. R.; Motoc, I. *Top. Mol. Pharmacol.* 1986, 3, 115—155.
106. Marshall, G. R. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1987, 27, 193—213.
107. Beveridge, D. L., *Computer Simulation of Chemical and Biochemical Systems*; Jorgensen, W. L., Eds.; New York, 1986.
108. McCammon, J. A.; Harvey, S. C. *Dynamics of Proteins and Nucleic Acids*; Cambridge University; Cambridge, 1987.
109. van Gunsteren, W. F.; Weiner, P. K., Eds.; *Computer Simulation of Biomolecular Systems*; ESCOM; Leiden, 1989.
110. Metropolis, N.; Rosenbluth, A. W.; Rosenbluth, M. N.; Teller, A. H.; Teller, E. J. *Chem. Phys.* 1953, 21, 1087.
111. Saunders, M.; Houk, K. N.; Wu, Y.-D.; Still, W. C.; Lipton, M.; Chang, G.; Guida, C. J. *Am. Chem. Soc.* 1990, 113, 1419—1427.
112. Miranker, A.; Karplus, M. J. *Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 9161—9175.
113. Jorgensen, W. L.; Ravimohan, C. J. *Chem. Phys.* 1985, 83, 3050—3054.
114. McCammon, J. A. *Science* 1987, 238, 486—491.
115. Jorgensen, W. L. *Acc. Chem. Res.* 1989, 22, 184—189.
116. Horn, A. S., de Ranter, C. J., Eds. *X-ray Crystallography and Drug Action*; Clearendon; Oxford, 1984.
117. Stezowski, J. J.; Chandrasekhar, K. *Annu. Rep. Med. Chem.* 1986, 21, 293—302.
118. Jefson, M. R. *Annu. Rep. Med. Chem.* 1988, 23, 275—283.
119. Clore, G. M.; Gronenborn, A. M.; Brünger, A. T.; Karplus, M. J. *Mol. Biol.* 1985, 186, 435—455.
120. Martin, Y. C. *Quantitative Drug Design—A Critical Introduction*; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1978.
121. Hansch, C. *Acc. Chem. Res.* 1969, 2, 232—239.
122. Cramer, R. D., III; Patterson, D. E.; Bunce, J. D. J. *Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 5959—5967.
123. Gund, P. *Annu. Rep. Med. Chem.* 1978, 14, 299—308.
124. Baker, B. R.; Wood, W. F. J. *Med Chem.* 1968, 11, 644—649.
125. Baker, B. R. *Design of Active-Site-Directed Irreversible Enzyme Inhibitors*; Wiley; New York, 1967.
126. Zee-Cheng, K.-Y.; Cheng, C. C. J. *Pharm. Sci.* 1970, 59, 1630—1634.
127. Townsend, L. B.; Schram, K. H.; Beranek, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979, 76, 4075—4078.
128. Smellie, A.; Kahn, S. D.; Teig, S. L. J. *Chem. Inf. Comput. Sci.* 1995, 35 (2), 295—304.
129. Smellie, A.; Kahn, S. D.; Teig, S. J. *Chem. Inf. Comput. Sci.* 1995, 35 (2), 285—294.
130. Allen, F. H.; Bellard, S.; Brice, M. D.; Cartwright, B. A.; Doubleday, A.; Higgs, H.; Hummelink, T.; Hummelink-Peters, B. G.; Kennard, O.; Motherwell, W. D. S.; Rogers, J. R.; Watson, D. G. *Acta Crystallogr. Sect. B* 1979, 35, 2331—2339.
131. Bernstein, F. C.; Koetzle, T. F.; Williams, G. J. B.; Meyer, E. F., Jr.; Brice, M. D.; Rodgers, J. R.; Kennard, O.; Shimanouchi, T.; Tasumi, M. J. *Mol. Biol.* 1977, 112, 535—542.

132. Hann, M.; Green, R. *Chemoinformatics Chem. Biol.* 1999, 3 (4), 379—383.
133. Swanstrom, R.; Erona, J. J. *Pharmacol. Ther.* 2000, 86 (2), 145—170.
134. Leung, D.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. *J. Med. Chem.* 2000, 43 (3), 305—341.
135. Wlodawer, A.; Erickson, J. W. *Annu. Rev. Biochem.* 1993, 62, 543—585.
136. Lam, P. Y. S.; Jadhav, P. K.; Eyermann, C. J.; Hodge, C. N.; Ru, Y.; Bacheler, L. T.; Meek, J. L.; Otto, M. J.; Rayner, M. M.; Wong, Y. N.; Chang, C. -H.; Weber, P. C.; Jackson, D. A.; Sharpe, T. R.; Erickson-Viitanen, S. *Science* 1994, 263, 380—384.

(王国平 译)

J

## 剂型的发展历史及基本制剂知识

Robert A. Buerki

The Ohio State University College of Pharmacy, Columbus, Ohio, U. S. A.

Gregory J. Higby

American Institute of the History of Pharmacy, Madison, Wisconsin, U. S. A.

### 引言

在过去的一千年里, 药物剂型的创新和制造成为药学实践的核心内容。对 19 世纪的美国药剂师来说, 医生处方上的 *Secundum Artem* (按常法), 或缩写“S. A.”可以指导他们用其特有的专业知识艺术性地调配药品。正是这种对艺术范畴的超越, 而不是科学, 产生了几乎是今天所有的药物剂型。片剂、胶囊、注射剂和口服溶液剂在一个世纪以前就已为医生和药剂师所熟知。另外, 还有一些试图满足某些患者的治疗需要的特殊剂型, 即使药物以此类剂型服用没有效果或者仅仅用于治疗表面症状而不是针对病因。大多数剂型的起源已经消失在历史的长河中, 基于此原因, 作者联系手中所掌握的为数不多的资料和相当数量的关于剂型历史的推测信息, 决定率先写出此篇综述。同时, 我们还整理了传统西医中使用的术语表, 用来描述常用和不常用的给药模式。

在药学的发展历史中, 对药物制备方法的关注远远多于对最终剂型的关注。16 世纪以前, 几乎所有的药物都来源于植物, 它们作为原料制备成药物制剂。这些制剂以西方治疗学上的伟大人物——帕加马的克劳迪阿斯盖仑(131~201 年)命名, 被称作盖仑制剂。严格意义上说, 盖仑制剂系指用乙醇或其他溶剂浸渍和渗漉天然药物, 以得

到有效成分、放弃不溶性惰性组分而制备的药物制剂。包括汤剂、浸膏、流浸膏、甘油流浸膏、油浸剂、浸剂、油性树脂剂、树脂剂、酊剂和醋剂等剂型。今天, 这些术语非常不严密地用于表示任何形式的简单药物制剂, 无论是天然药物的提取物还是化学药品的溶液。由于盖仑制剂的给药方式通常没有变化, 对新的提取方法和其他制备技术的探索往往带动剂型研究的发展。从盖仑时期开始, 药物制备者的目标就转变为创造稳定、无惰性物质、疗效显著的剂型, 专注于优化药物的处置和给药方式。

表 1 和表 2 提供了药典和其他法定或非法定典籍收录的古代和现代药物制剂的综合分类信息, 但是没有将浸渍或渗漉方法制备的剂型(盖仑制剂)和其他化学或物理方法制备的类似剂型加以区分。药物制剂分为液体制剂和固体制剂。液体制剂又分为: ①普通水溶液及其制剂; ②甜性或黏性水溶液及其制剂; ③普通非水溶液及其制剂; ④乙醇或挥发性溶液及其制剂; ⑤油性溶液及其制剂; ⑥非胃肠道用溶液及其制剂。固体制剂分为: ①含药固体; ②含药固体颗粒; ③含药固体敷剂; ④口服单剂量剂型; ⑤非口服单剂量剂型。剂型按字母顺序排列, 包括拉丁名和同义词。每个剂型的历史发展可以追溯到约 1950 年, 在那以后随着现代制药科学用于深入解决剂型方面的问题, 这些术语也在药学文献中得到了广泛使用。

表 1 液体药物制剂

普通水溶液及其制剂			
Acids, diluted 稀释酸剂	Enemas 灌肠剂	Milks 乳液	Vapors 吸入剂
Aerosols 气雾剂	Fomentations 热敷剂	Solutions 溶液剂	Vinegars 醋剂
Baths 浴用剂	Gargles 漱口剂	Solutions, irrigating 冲洗剂	Washes 洗剂
Decoctions 汤剂	Infusions 浸剂	Solutions, nasal 鼻用溶液剂	Washes, mouth 口腔洗剂
Douches 灌洗剂	Inhalations 吸入剂	Solutions, ophthalmic 眼用溶液剂	Washes, aromatic 芳香洗剂
Draughts 顿服水剂	Insessia 蒸汽浴	Sprays 喷雾剂	
Drops 滴剂	Juices 汁剂	Suspensions 混悬剂	
甜性或黏性水溶液及其制剂			
Condita 蜜饯	Linctus 舐膏剂	Mixtures 合剂	Shampoos 洗发剂
Confections 糖膏剂	Lohochs 舐膏剂	Mucilages 胶浆剂	Syrups 糖浆剂
Conserves 糖剂	Lotions 洗剂	Oxymels 醋蜜剂	
Honeys 蜜剂	Magmas 糊剂	Quidnones 糖浆剂	
普通非水溶液及其制剂			
Fluidglycerates 甘油流浸膏	Glycerites 甘油剂	Paints, medicinal 药用涂布剂	
乙醇或挥发性溶剂及其制剂			
Collodions 火棉胶	Elixirs 酏剂	Juleps 药制饮料	Tinctures 酊剂

续表

Cordials 香酒	Essences 精油剂	Solution 溶液剂	Wines 酒剂
Drops toothache 牙痛滴剂	Fluidextracts 流浸膏剂	Spirits 酊剂	
油性溶液及其制剂			
Balsams 香胶	Liniments, dental 牙用搽剂	Oleates 油酸制剂	Petroxolins 石蜡液剂
Emulsions 乳剂	Oils 油剂	Oleoresins 油性树脂剂	
Liniments 搽剂	Oils, infused 油浸剂	Oleovitamins 维生素油剂	
非胃肠道用溶液及其制剂			
Ampuls 安瓿	Injections 注射剂	Serums 血清剂	

表 2 固体药物制剂

含药固体			
Bandages 绷带	Electuaries 药糖剂	Lamels 眼片剂	Resins 树脂剂
Cones, medicated 含药锥剂	Extracts 浸膏剂	Moxa 艾	Silk, oiled 油绸
Dressings, medicated 药用敷料	Gums 树胶	Papers, medicated 加药纸剂	Soaps 肥皂
Dressings, protective 保护敷料	Inhalants 吸入剂	Papers, waxed 蜡纸	
含药固体颗粒			
Abstracts 提取物	Oil sugars 油糖剂	Salts 盐	Teas 茶剂
Cucufa 药粉帽	Powders 散剂	Salts, artificial 人工盐	Triturations 研磨制剂
Insufflations 鼻吸入剂	Precipitates 沉淀剂	Salts, effervescent 泡腾盐	
Magisteries 沉淀剂	Saccharures 糖酊剂	Salts, smelling 嗅盐	
含药固体敷剂			
Applications 敷剂	Epithema 上皮层给药制剂	Ointments, ophthalmic 眼膏剂	Rubifacients 红肿诱导剂
Auristilla 滴耳剂	Frontalia 额用制剂	Pastes 糊剂	Sacculi 球囊剂
Cataplasms 泥罨剂	Gelatins 明胶剂	Pencils, medicated 加药笔剂	Scutum 盾剂
Caustics 腐蚀剂	Gels 凝胶剂	Plasma 乳浆	Spasmodraps 膏剂
Cements 接合剂	Glycerogelatins 甘油凝胶剂	Plasters 膏剂	Stypes 药布
Cerates 蜡剂	Inunctions 涂擦剂	Plasters, adhesive 橡皮膏剂	Swabs 拭子
Cerecloths 蜡布剂	Litus 涂布剂	Plasters, blister 发泡膏剂	Vesicatories 起疱剂
Creams 乳膏剂	Mulls, 展膏剂	Plasters, porous 多孔硬膏剂	
Dentifrices 洁牙剂	Ointments 软膏剂	Pomatum 发膏剂	
口服单剂量制剂			
Bacillules 锭剂	Granules 颗粒剂	Pills 丸剂	Triturates, tablet 研制片
Cachets 扁囊剂	Masses 丸剂块	Powders, divided 分剂量散剂	Troches 锭剂
Capsules 胶囊剂	Parvules 小丸	Tablets 片剂	Wafer envelopes 糯米纸囊剂外壳
Capsules, soft 软胶囊剂	Pastilles 软锭剂	Tablets, hypodermic 皮下注射片剂	Wafers 糯米纸囊剂
Dragées 糖锭剂	Pearls 珠剂	Tablets, poison 毒片剂	
Globules 球剂	Pellets 小糖丸	Tablets, solution 溶解片剂	
非口服单剂量制剂			
Bougies 探条	Pessaries 阴道栓剂	Politzer plugs 耳用棉塞	Suppositories 栓剂

## 剂型及基本制备知识

Abstracts (提取物): 提取物是天然药物的粉末状浸膏。其制备方法是用适宜的溶媒渗漉药物, 保留一部分, 再将稀滤液蒸发, 形成稀提取液, 然后将保留部分与提取液及乳糖混合, 蒸发混合物直至干燥。称量此混合物, 加入足够的乳糖, 使最终产品的质量为最初药材质量的 1/2。所得的产品的药效即为初始药材的 2 倍。提取物对调剂处方来说极为便利, 但却没有得到很好的普及。该制剂收录在 1880 年出版的《美国药典 VI》中, 却在紧接着的一次改版中被删除<sup>[1]</sup>。

Acetum (醋剂): 参见 Vinegars。

Acid diluted (稀释酸剂): 稀释酸剂为酸制剂, 浓度通常为 5%~10%, 可供内服和外用。酸剂早在 1820 年就被第一版美国药典收录。这一术语来源于拉丁语 acidus, 意为“锐利的”或“酸的”<sup>[2,3]</sup>。

Acidum dilutum (稀释酸剂): 参见 Acids, diluted。

Aerosols (气雾剂): 气雾剂系指极细小的液体或固体颗粒分散在气体中而形成的给药系统。现代气雾剂的起源可以追溯到 1862 年, Lynde 申请了一项阀的专利, 与汲取管结合, 可以将气化液体从瓶中分发出来。1899 年, Helbing 和 Pertsch 又加入了液化气。20 世纪初期, 与此相关的专利多与喷洒香水有关。20 世纪 30 年代, 气雾型灭火器

# J

开始使用,第二次世界大战期间又出现了喷雾型杀虫剂(昆虫炸弹)。1947年,气雾剂引入医学领域,并在50年代迅速发展。1952年,气雾剂的产量将近50万支;到1963年,这个数字上升到4000万支<sup>[4]</sup>。

Ampulla (安瓿): 参见 Ampuls。

Ampuls (安瓿): 安瓿是一种密封的细颈瓶形小玻璃容器,用于盛装灭菌的药物治疗,供皮下注射、肌肉注射或静脉输液用。同时,安瓿也作为一种分类名称收录在《美国国家处方集V》(N.F.)(1926年)中,代表装在其中的溶液。安瓿于1886年由法国药剂师 Stanislas Limousin (1831~1887年)发明,当时是为了满足内科医生保存注射液的需要,因为注射液运输困难且由于霉菌的产生极易变质。Limousin 发表在《药剂学档案》(Archives of Pharmacy) (1886年)上的经典文章“*Ampoules hypodermiques; nouveau mode de préparation des solutions hyperdermiques*”中,总结了制造加工安瓿的要点:

安瓿的形状为小卵球形,由细小的玻璃管制得,容积稍大于1mL。

使用巴斯德消毒法,将安瓿放进约200℃的烘箱中,对其内壁灭菌。接着把热安瓿的顶端放进冷液体中、或用小型注射器把热液体从安瓿的顶端注入,将药物溶液装进安瓿中。

安瓿装满液体后,把瓶子的开口端放在氧化火焰的最上端,将其密封。

虽然安瓿生产的技术和机械取得了巨大进展,但 Limousin 简单规则仍然是其基本原理。在美国,安瓿或“在无菌条件下装满药物注射用溶液的密闭容器”,被正式收录在国家处方集V(1926年)中;同年,美国药典X收录了关于灭菌的章节,但没有关于安瓿的专论。美国国家处方集中的碘酒安瓿,将碘酊(美国药典)装在密闭容器中,打破容器后,其中的液体可局部用于伤口或创伤的紧急消毒,这一制剂在直到美国国家处方集XIII(1970年)始终被列为正式条目。法语单词 ampoule 来源于拉丁语 *ampulla*,最初是指盛放香水的陶制罐状容器<sup>[2,4~6]</sup>。

Antiseptic cottons (消毒棉): 参见 Dressings, medicated。

Antiseptic gauzes (消毒纱布): 参见 Dressings, medicated。

Antiseptic pencils (消毒笔剂): 参见 Pencils, medicated。

Apozemes (煎剂): 参见 Decoctions。

Applicatio (敷剂): 参见 Applications。

Applications (敷剂): 任何外用的制剂<sup>[5]</sup>。

Aqua (水): 参见 Waters。

Artificial salts (人工盐): 参见 Salts, artificial。

Astringent pencils (收敛笔剂): 参见 Pencils, medicated。

Auristilla (滴耳剂): 滴耳剂是一种用于治疗耳道疾病的制剂。《美国国家处方集V》(1926年)所收录的莨菪复方油剂就属于该剂型,《法国药典》(1908年)中所提到的博梅镇静剂也与之非常相似<sup>[5]</sup>。

Bacillula (棒剂): 参见 Bacillules。

Bacillules: Bacillules 系指将大量糖锭原料滚压成圆柱

或丸剂柱,然后将圆柱切成长度约为其直径2倍的片段而制得的棒状锭剂。甘草锭剂,即以前为人们所熟知的威斯特锭剂,就经常用这种形式制备(参见 Troches)<sup>[5]</sup>。

Bacillum (探条剂): 参见 Bougies。

Balneum (浴剂): 浴剂即为普遍应用的沐浴剂(参见 Baths)<sup>[5]</sup>。

Balsams (香胶): 香胶是树脂溶解在挥发油中的天然溶液,可能还含有安息香酸和苯乙稀酸。该名词在词义根源上与香料(spices)和防腐香油(embalming)均有关。在现代社会之前,香胶(法语为 baumé)系指任何含树脂的植物汁液或树胶,直到19世纪初才具有现代所指的含意。几个药典制剂,如古巴香胶,虽然不符合此项定义,但仍使用该名称,因为其外表与真正的香胶非常相似<sup>[1,7]</sup>。

Balsamum (香脂): 参见 Balsams。

Bandages (绷带): 绷带是带状、条状的棉纱或其他材料,在外科治疗中用来保持敷料,压敷、保护或者支撑患病或受伤部分的肌体。绷带可以分为无弹性、半弹性、弹性或夹板绷带。无弹性绷带包括软棉布或成卷绷带、纱布绷带和水敷绷带;半弹性绷带包括法兰绒绷带;弹性绷带包括橡胶绷带、橡胶处理绷带或织布绷带;夹板绷带包括石膏绷带和构成石膏绷带使用处的基础的裙衬绷带(糊精硬化处理的纱布)或淀粉绷带(淀粉糊硬化处理的纱布)<sup>[5]</sup>。

Baths (浴剂): 浴剂系指用水冲洗身体表面,是最古老的治疗方法之一。虽然也在水中加入一些药物,但清水洗浴,或称浴剂,仍是最普遍的方法。19世纪,运用水的治疗手段达到其顶峰时,浴剂分为热水或蒸气(高于36.1℃)、温热水(29.4~36.1℃)、温水(18.3~29.4℃)和冷水(0~18.3℃)浴。热水浴让人产生刺激,温热水浴让人放松,温水浴可以治疗皮肤问题,冷水浴根据使用方法的的不同,可以起到刺激人体、恢复体力或是镇静作用<sup>[8]</sup>。

Blister plasters (发疱膏剂): 参见 Plasters blister。

Boluses (大丸剂): 大丸剂系指大于325mg的大药丸。该术语来源于希腊语 bolos,意为“块”(参见 pills)<sup>[2,5]</sup>。

Bougia (杆剂): 参见 Bougies。

Bougies (探条剂): 探条系指可以插入尿道或身体其他腔道进行治疗的仪器或有特定形状的固体药物。该名词来源于法语 bougie,指代一种以阿尔及利亚城市 Bougie 命名的细蜡烛<sup>[2,5]</sup>。

Buginarium (鼻杆剂): 一种鼻腔用杆剂(参见 Bougies)<sup>[5]</sup>。

Cachets (扁囊剂): 扁囊剂系指由米粉干糊片压制而成的扁豆状或匙状、有边缘的圆形薄片,用于带有苦味或恶心味道的药物粉末的给药。将药粉放入干燥的凹陷的扁囊中,边缘用水润湿,然后将另一块凸起的空扁囊放在上面,将扁囊密封,从而包裹药粉。名词“扁囊”来源于法语 cacher,意为“隐藏”。祛痛扁囊剂(cachet de pain)作为糯米纸囊剂和糯米纸囊剂外壳的改良剂型,于1873年由法



国药剂师 Stanislas Limousin (1831~1887 年) 发明。Limousin 还研制出一种可以容纳三个扁囊的带孔板、药粉计量器、药粉漏斗以及木质“加湿器和压制器”来加快药剂师临时制备扁囊剂的速度。1885 年前后, 位于波士顿的 J. M. Grosvenor 公司生产出了一种很受欢迎的扁囊剂和扁囊制作设备, 商品名称为“Konseals”。Konseals 设备包括三个有孔镀镍金属盘, 铰合在一起形成一个盖板、一个底板和一个防护板。将碟形米粉扁囊分别压入盖板和底板的孔中, 同时防护板折叠以保护底板中的扁囊的密封边。药物粉末从特殊漏斗填充进底板的扁囊中, 并用顶针式压缩机将其压实。然后防护板升起, 湿润的滚筒擦过盖板中的空扁囊边缘, 与底板相闭合, 将扁囊密封。Konseals 的制备材料与普通的扁囊剂薄相比, 最终的产品体积较小, 外形更整洁。随后 Johann Schmidt 发明了无边缘的干封扁囊剂 (dry seal cachet), 类似于扁平状胶囊, 但是其通过加压而非加湿封口 (参见 Wafers)<sup>[2,4,5]</sup>。

Cachets, dry seal (干封扁囊剂): 参见 Cachets。

Caementum (黏固剂): 参见 Cements。

Cambric, oiled (浸油棉布): 参见 Silk, oiled。

Capsula (胶囊剂): 参见 Capsules。

Capsula amylacea (淀粉胶囊剂): 由淀粉做成的胶囊剂 (参见 Cachets)。

Capsula dura (硬胶囊剂): 硬质胶囊 (参见 Capsules)。

Capsula gelatina (明胶胶囊剂): 由明胶做成的胶囊 (参见 Capsules)。

Capsulamollis (软胶囊剂): 软质胶囊 (参见 Capsules, soft)。

Capsules (胶囊剂): 胶囊剂系指通过硬明胶和蔗糖的外壳嵌套式连接而制成的制剂, 用于固体、块状和液体药物的给药。该名词来源于拉丁语 *capsula*, 是 *capsa* 的指小词, 意为“盒子”。1833 年法国药剂师 Francois Mothes 发明了软胶囊; 在此之后, 1847 年伦敦的 James Murdoch 发明了嵌套式硬胶囊并获得专利。在美国, 纽约的 H. Planten 公司于 1836 年后生产出了二分部胶囊, 但该种胶囊的有效性被两部分较差的配合所削弱。1863 年, 该公司又开发出了枣泥胶囊, 用于药物粉末的调配, 并在 1870 年前投放市场。另一家制造商, Dundas Dick, 也在同一研究方向进行了尝试并在 1865 年获得了一项锥形胶囊的专利。12 年后, 底特律药剂师 F. A. Hubel 受到一篇意大利的报道的启发, 制造出一种安装在木块上的铁丝模具, 该模具可以浸在明胶溶液中。采用不同直径的囊体和囊帽栓, Hubel 制造出的囊体和囊帽可以互相嵌套, 形成两端封闭的小圆筒, 这就是现代硬胶囊的原型。1875 年, Hubel 将他所有的产品都卖给 Parke, Davis & Co. 公司, 并在 1877 年获得了他一系列专利中的首个专利。尽管有专利保护, 但一些小的竞争对手也很快开始制造硬胶囊供其他公司销售或提供给自己的销售组织, 他们中的大部分后来被 James Wilkie 整合进了美国胶囊公司。1901 年前后, 美国胶囊公司及其下属的 M. L. 胶囊公司被 Parke, Davis & Co. 公司收购, 并

且在 Wilkie 的管理下, 该公司完成了对生产工艺的扩展和改进。Wilkie 被世人所铭记, 还因为他引入了比铁更为优良的磷铜丝制作胶囊模具, 这种模具一直广泛使用, 直到 20 世纪 30 年代被不锈钢所代替。20 世纪 20 年代, 随着自动填充装置的完善, 胶囊制造业获得了巨大的推动力。药剂师可以随时在调配柜台上将胶囊囊体以均匀压力压进表面平整的药粉层, 加盖后, 检查填充胶囊的质量 (参见 Capsules, soft)<sup>[2,9~11]</sup>。

Capsules, elastic (弹性胶囊剂): 参见 Capsules, soft。

Capsules, enteric-coated (肠衣胶囊剂): 参见 Enteric-coated doses。

Capsules, gelatin (明胶胶囊剂): 参见 Capsules。

Capsules, glutoid (硬明胶胶囊剂): 参见 Enteric-coated doses。

Capsules, hard (硬胶囊剂): 参见 Capsules。

Capsules, soft (软胶囊剂): 软胶囊是一种弹性球状明胶壳, 其中含有足够的甘油使其保持持久的弹性, 主要用于刺激性或有不良味道的油状液体药物的给药。软胶囊于 1833 年由法国药剂师 Francois Mothes 发明; 次年, Mothes 和 Joseph Dublanc 对其进行了改进并被授予专利; 1840 年, 布加勒斯特宫廷药剂师 Adolph Steeger 又对其进行了完善。软胶囊比硬胶囊易于服用, 适合大剂量液体药物的给药。最初的 Mothes 胶囊是空心软明胶球体, 顶端有开口以供填充药物; 胶囊填满后, 用一滴热明胶将开口封住。1846 年, Giraud 发明了一种有长颈的橄榄形软胶囊。先将模具浸入暖甘油明胶溶液中; 干燥后, 将模具剥离, 胶囊颈密封以备后用; 药剂师根据需要切断胶囊颈, 用滴管或注射器将药物填充进胶囊, 然后用一滴热甘油明胶或热刀片将胶囊口封闭。软胶囊的第一个生产用法定处方出现在 1866 年的法国药房药典中 (参见 Capsules)<sup>[4, 5, 10, 5, 12]</sup>。

Capsules, starch (淀粉胶囊剂): 参见 Cachets。

Carbasus (纱布): 参见 Dressings, medicated。

Cataplasma (泥敷剂): 参见 Cataplasms。

Cataplasms (泥敷剂): 泥敷剂是一种外用、湿润的物质, 能持续、精确地附着在作用表面, 不会流动而扩散到邻近区域, 也不会过黏而牢牢附着在皮肤表面。Cornelius Celsus (公元前 50~25 年) 描述了早期罗马的软膏剂或称泥罨剂 (malagma, 来源于拉丁语 malasso, 意为“柔软”), 是将在水中煮沸的面粉与熔化的橡胶或蜂蜡混合而制成的坚硬的面糊。名词“泥敷剂”来源于希腊语 kata 和 plasso, 意思分别为“向下”和“浇铸”。现代的泥敷剂系指将甘油和干粉末 (如瓷土) 混合研磨, 制成的坚硬的混合物。泥敷剂 (或泥罨剂, poultices) 在美国通常只在家庭中使用, 制作也是在家中, 药剂师很少制备这类制剂。瓷土泥敷剂曾被《美国药典Ⅷ》(1905) 收录, 但是在 1916 年被转移至《美国国家处方集Ⅳ》中<sup>[2,4,5,13]</sup>。

Caustic pencils (腐蚀性笔剂): 参见 Pencils, medicated。

Caustics (腐蚀剂): 腐蚀剂是一种破坏其作用部位的生命局部给药制剂。该名词来源于希腊语 kaustikos, 意



为“灼伤”。常用的最强烈的腐蚀剂是氢氧化钾或称苛性钾，可以在身体上形成脓疮口或打开脓肿。《美国国家处方集》(1836年)中建议的使用腐蚀剂形成脓疮口的最方便的方式为：

在皮肤上铺一片涂有橡皮膏的亚麻布，布片的中心有一圆形开口，开口的尺寸应与脓疮的大小相适应，然后用一端被腐蚀剂湿润的布条擦拭开口中的皮肤。应持续施药，直至给药部位坏死，再用湿海绵或湿布小心地将腐蚀剂擦去，或用醋中和。

苛性钾有时用来消除尿道狭窄，或配成溶液施于脊背上治疗破伤风。一种当代的腐蚀剂，硝酸银，曾在公元17世纪被Geber所提及，直到现在仍然以硝酸银棒的名义保留在美国药典中。Christopher Glaser，路易十四的药剂师，最早将其制成棒状用作腐蚀剂<sup>[2, 5, 13]</sup>。

Cements (接合剂)：第七版《美国国家处方集》(1942年)中列举了一个锌化合物和丁香酚接合剂的处方，它被牙科医生广泛用做临时填充物。该接合剂能够起到消毒和保护牙质免于受到更多破坏的作用。此处方在第九版《美国国家处方集》(1950年)中删去<sup>[14]</sup>。

Cerates (蜡剂)：蜡剂是一种作为敷料外用、治疗皮肤炎症的油性物质。蜡剂来源于古希腊语 *keroma* (源于 *keros*，意为“蜡”)，通常以油、猪油或凡士林为基质，加入足量的蜂蜡、石蜡、鲸蜡或树脂以提高所用油和脂肪的熔点。蜡剂所具有的稠度应能确保其易在常温下用药匙铺展在棉布或类似材料上；同时，也不能太软而在皮肤上液化、流动。使用最为广泛的蜡剂是斑螫蜡剂，一种由西班牙绿芫菁制成的发泡膏药，已被《美国药典》收录，随后直到1950年一直被《美国国家处方集》所收录(参见 *Plasters, blister*)<sup>[5]</sup>。

Ceratum (蜡剂)：参见 *Cerates*。

Cerecloths (蜡布剂)：William Salmon 在他的《伦敦药典》(1691年)中描述，蜡布剂是浸制膏剂的早期形态，主要涂在由于腐蚀或割伤而造成的脓疮口——小面积溃疡上，因为蜡布上的释放物能够实现一定的治疗作用。也称作 *spasmadraps* 或 *sparadraps* (参见 *Plasters*)<sup>[15]</sup>。

Cereolus (药制杆剂)：药制杆剂是一种尿道探条(参见 *Bougies*)<sup>[5]</sup>。

Charta (纸剂)：该名词来源于希腊语 *chartes* 或 *papyrus* (参见 *Papers, powder*)<sup>[2]</sup>。

Charta amylacea (淀粉纸剂)：淀粉纸(参见 *Cachets*)。

Charta cerata (蜡纸剂)：参见 *Papers, waxed*。

Chrisma (油膏剂)：一种药膏(参见 *Ointments*)<sup>[5]</sup>。

Clysters (灌肠剂)：参见 *Enemas*。

Coatings, pill (包衣丸剂)：Rhazes (85~923年)曾经用欧车前种子的胶浆包覆有异味的药丸；一个世纪后，Avicenna (980~1037年)提出对药丸进行银包衣和金包衣，目的不仅为了掩味，而且为了增强预期疗效。后来，17世纪极具影响力的巴黎内科医生和药剂师 Jean de Renou 建议，有苦味的药丸应该镀金并混合一些粉末状香料。药

丸用金衣和银衣包裹，在巴黎和欧洲的其他部分地区较为普及，直到19世纪才传到美国，但是后来被停止使用。Mohr、Redwood 和 Procter 的经典著作《应用药理学》(1849年)报道：箔衣丸剂“仍然被偶尔使用，但使用频率比从前大为减少”。胶囊的发明，间接促使糖衣和明胶包衣丸剂开始为人们所接受。1838年，巴黎药剂师 M. Garot 用明胶对有异味的丸剂包衣。而在此一年前，法国药剂师 Labelonie 已经建议茛菪茄和古巴香脂丸剂应该用糖包衣，该工艺在1837年还被巴黎的 Adolphe Fortin 申请专利。在随后的几年中，其他法国药剂师 (Deschamps、Bousquet、Mayer 和 Roman) 分别成功地使用不同的糖、蜂蜜和阿拉伯胶的混合物对丸剂进行包衣，并获得专利。到1862年，英国的 Bernard Proctor 已经能够列出45种使用不同材料对丸剂进行包衣的截然不同的工艺。在美国，早在1845年第一家糖衣丸剂制造商就与专利药工厂进行合作。纽约人 Cornelius V. Clickener 和 Zadoc Porter 以及费城药剂师 Swayne，都宣称自己是糖衣丸剂的发明者，但是都毫无疑问地借鉴了法国技术。1857年，已有5种不同专利药的糖衣丸剂可供美国药剂师们使用，但药剂师仍无法自己临时对丸剂进行糖包衣。大约在同一时间，Henry A. Tilden 和 William R. Warner 分别独立研究出糖衣丸剂的制造工艺，并开始将产品大量出售。1866年，Warner 开始以自己公司的名称，William R. Warner 公司，进行生产。同年，费城的 Henry Wathew 研制出一种倾斜包衣锅，并获得专利，直到现在这种包衣锅仍在使用。至19世纪70年代中期，各种各样的小型机械包衣锅已经可以供美国药剂师们使用，尽管由此包衣的质量通常比大规模生产差，不过正是由于此原因，药剂师们放弃了自己包衣<sup>[16~18]</sup>。

Coatings, tablet (包衣片剂)：当压制片剂作为一种比丸剂优越的剂型被采用和接受后，糖衣丸剂的包衣技术也逐渐应用于片剂上(参见 *Coatings, pill*)。而且，费城人 Charles Carter 早在1858年便提出了压制包衣技术。1896年，P. J. Noyes 发明了一种能将包衣材料填进可移动模具的设备；通过自动锤击打上冲，粉末被压缩而形成了覆在丸剂或片剂表面的膜衣。第二年，Noyes 将设备进行改进，使它不仅能够进行包衣，而且能够完成片剂的预压过程，并获得专利。F. J. Stokes 在1917年也申请了一种类似设备的专利，尽管片剂的压制包衣技术直到20世纪50年代才被广泛采用<sup>[18]</sup>。

Collodions (火棉胶)：火棉胶系指火棉溶解在乙醇和乙醚混合物或类似溶剂中制成的液态外用制剂。在1846年 Schoebein 发现火棉后不久，它即很快作为医用，首先在1847年被 Maynard 用作外科敷料<sup>[19]</sup>。

Collodium (火棉胶)：参见 *Collodions*。

Collunarium (洗鼻剂)：参见 *Solutions, nasal*。

Collutorium (漱口剂)：参见 *Washes, mouth*。

Collyrium (洗眼剂)：参见 *Solutions, ophthalmic*。

Compressed pills (压制丸剂)：参见 *Tablets*。

Compressed tablets (压制片剂)：参见 *Tablets*。

Condita (蜜饯): 蜜饯由糖制或蜜制的根或果实组成。其制作方法是, 首先将植物的局部煮沸至软, 然后浸在热糖浆中, 再倒出糖浆; 上述步骤重复几次后, 将糖浆熬浓、变稠。蜜饯也可以是酒、蜂蜜和香料 (通常为胡椒) 的混合物。蜜饯也称为 confitures 或 sweetmeats<sup>[18,20]</sup>。

Cones medicated (含药锥剂): 锥剂是一种轻质、多孔的半球形蔗糖和蛋清聚集体, 用作顺势疗法中的载体。锥剂, 也称圆片剂 (disks), 其尺寸 (以毫米计) 根据基质的直径而设定。通用的尺寸 (6 号) 应能吸收约 2 滴乙醇。在锥剂中添加足量的稀释剂使其饱和, 并倒出多余的液体, 便成为含药锥剂<sup>[5]</sup>。

Confectio (糖膏剂): 参见 Confections。

Confections (糖膏剂): 糖膏剂系指加入一种或多种药用材料的糖质软固体, 服用舒适、保存方便。13 世纪, 一些药剂师被称作 confectionarii, 就是来源于意为“混合物”的 confection。糖膏剂通过将糊状、细粉或液体形式的药用成分加入到极细糖粉基质中而制得。玫瑰糖膏剂和番泻叶糖膏剂被美国国家处方集第五版 (1926 年) 正式收录<sup>[2,5]</sup>。

Confitures (蜜饯): 参见 Condita。

Conserva (糖剂): 参见 Conserves。

Conserves (糖剂): 糖剂系指由新鲜药用植物和精制糖制备并制成均匀质量的糖膏剂。《美国国家处方集》(1836 年) 中注明“由于活性成分经过这种处理方式后发生了一些变化, 并且由于干燥失去了本身的特性而不能长期保存, 所以现在所保留下来的为数不多的糖剂往往用作其他药物的方便载体, 而不再单独给药”。糖剂也称 preserves (又见 Confections)<sup>[5,13,20]</sup>。

Cordiale (香酒): 参见 Cordials。

Cordials (甜酒): 甜酒是一种高乙醇浓度的甜味乙醇制剂, 同时也是一种兴奋心脏的滋补药品<sup>[5,20]</sup>。

Cottons, antiseptic 或 medicated (消毒棉或药棉): 参见 Dressings, Medicated。

Creams (乳膏剂): 乳膏剂为半固体状的外用乳剂, 通常含有药物。广义的“乳膏”指代各种外用的、不透明的、软质半固体或浓稠液体。英国药典将乳膏剂归类为含药的液体乳剂, 由无水羊毛脂、橄榄油 (或其他不挥发油) 和石灰水的混合物组成; 镁乳也经常被作为一种乳膏剂, 许多化妆品也称作乳膏。Claudius Galen (131~201 年) 研制了第一个清凉型乳膏剂, 或称“冷霜”, 是一种含有橄榄油、玫瑰油、白蜡和少量水的油膏。这便是 13 世纪 Johann Mesue Jr. 发明的其他类型化妆品油膏的原型。现代的乳膏, 包含杏仁油、鲸油、白蜡和玫瑰水, 以“玫瑰水软膏”或“盖伦蜡膏”为名收入美国药典中。药用乳膏, 随着一种“防晒油”配方的出现, 也被《美国国家处方集Ⅷ》(1946 年) 正式收录, 这种防晒油可以保护皮肤免于晒伤而可晒成褐色。化妆用乳膏剂, 通常不含药物, 分为通用型乳膏、婴儿护肤霜、防护面霜、增白面霜、清洁乳液 (或按摩膏)、冷霜 (或脂)、粉底霜 (或雪花霜)、发乳和护手霜等<sup>[4,5,21]</sup>。

Cremor (乳膏剂): 参见 Creams。

Cucufa: Cucufa 是一种内层布满药粉的帽子, 可戴在头上增强脑力<sup>[22]</sup>。

Curatio (药用敷料): 参见 Dressings, medicated。

Decoctions (汤剂): 汤剂系指植物药在水中煮沸而得的溶液, 又称煎剂 (apozemes)<sup>[8]</sup>。

Decoctum (煎剂): 参见 Decoctions。

Dental liniments (牙科搽剂): 参见 Liniments, dental。

Dental wax (牙蜡): 参见 Drops, toothache。

Dentifrices (洁牙剂): 洁牙剂系指供清洁牙齿用的粉、膏、洗剂或药皂。洁牙剂的配方中通常加入芳香油类以使其有特殊香味, 有时还加入肥皂, 几乎都要加白垩粉, 洁牙剂通过牙刷施药。《美国国家处方集》在第 5 版 (1926 年) 正式收录了一个液体洁牙剂处方, 在第 11 版 (1960 年) 收录了一个粉末状洁牙剂处方<sup>[5]</sup>。

Dentifricium (牙粉): 参见 Dentifrices。

Dentilimentum (牙搽剂): 参见 Liniments, dental。

Dermatologic pastes (皮肤用糊剂): 参见 Pastes。

Diluted acids (稀释酸剂): 参见 Acids, diluted。

Disks (圆片剂): 参见 Cones, medicated。

Dispensing tablets (调剂片剂): 参见 Tablets, solution。

Douches (灌洗剂): 灌洗剂是一柱具有一定特性和温度的液体, 可以沿身体的某一部分流淌。空气也可作为灌洗剂使用<sup>[20]</sup>。

Dragées (糖锭剂): 早在 8 世纪, 阿拉伯人 Najm addyn Mahmoud 就曾记载, 糖锭剂是糖制或蜜制的根和果实; 18 世纪法国著名药剂师 Moyse Charas (参见 Confitures) 又再次提出这一制剂。19 世纪中叶, 糖锭剂的定义又被扩展, 包含糖衣药丸, 这种糖衣药丸通过在一个装有药物细粉和糖粉混合物的盆中, 重复振荡微湿的、质量仅约 6mg (1/10gr, 1gr=0.064 799g, 下同) 的糖粒 (或精制糖) 而制成。当覆上足够的糖衣层后, 这些糖衣药丸再经最后一层糖或柯巴脂和妥鲁香脂的包衣, Ernest Agnew 曾在美国药剂学杂志 (1870 年) 上描述了这一复杂的过程 (参见 granules)<sup>[18,23]</sup>。

Draughts (顿服水剂): 顿服水剂系指以单剂量或“顿服剂量”配制的液体药物制剂, 又称饮剂 (potions)<sup>[5]</sup>。

Dressings, medicated (含药敷料): 含药敷料系指稠度类似于软膏、在体温下保持半固体状态的外用药物制剂。石蜡敷料, 曾被美国国家处方集 VI (1936 年) 正式收录, 作为隔绝空气的、软的、柔滑的、止痛的、类似夹板的覆盖物应用于因烧伤而脱皮的皮肤上。许多材料都可以用作覆盖物或保护层, 加热或施药于患病或受伤部位, 防止伤口感染、吸收伤口渗出物以及防止其分解。消毒棉或药棉包括硼酸药棉、碘仿药棉、碘棉和止血棉; 消毒纱布或药用纱布包括硼酸纱布、升汞纱布、石炭酸纱布、碘仿纱布和苦味酸纱布; 消毒绒布或药用绒布包括硼酸绒布; 纤维填料或木质毛织品包括苔、泥炭、锯屑、黄麻和麻絮或海

产绒布。参见《英国药典》(1924年)中的代表性处方(又见 Bandages 及 Dressings protective)<sup>[5,24]</sup>。

Dressings, protective (保护敷料): 保护敷料由各种材料构成, 用作伤口覆盖物, 可保护伤口免受外部感染或预防敷料内包含的液体流出。保护性敷料也可用作泥褙剂的覆盖物以及保持热度。常用的保护性敷料有油绸、浸油棉布或亚麻布、蜡纸、马来乳胶纱、橡皮坝、橡皮布或薄棉布、橡胶单等<sup>[5]</sup>。

Drops (滴剂): 滴剂系指小剂量给药的药物混合物。20世纪以前, 这一名词用来表示小剂量以“滴”给药的溶液。这些被滴进水中的药物通常药性较强, 如阿片酊剂或称“黑色滴剂”。在现代药剂学中, 该术语更与用药需要密切相关, 将药物通过少量适宜的媒介, 应用到眼部(滴眼剂)、耳部(滴耳剂)或鼻腔(滴鼻剂)。滴剂的剂量取决于点滴器口径大小和液体的表面张力, 浮动范围较大, 因而滴剂作为一种剂量单位显得比较麻烦。美国药典 IX (1910年)规定点滴器的标准为, 在  $(15 \pm 1.5)^\circ\text{C}$  时, 每克水 20 滴<sup>[3,20]</sup>。

Drops, ear (滴耳剂): 参见 Drops。

Drops, eye (滴眼剂): 参见 Drops。

Drops, nose (滴鼻剂): 参见 Drops。

Drops, toothache (牙痛滴剂): 牙痛滴剂由苯酚的肉桂油溶液和甲基水杨酸盐组成。该溶液收录在美国国家处方集 V (1926年)中。将苯酚、木馏油或挥发油的混合物溶解在石蜡中, 加入少量棉丝, 用模具制成棒状就成为牙蜡<sup>[5]</sup>。

Ductum (灌洗剂): 参见 Douches。

Dry seal cachets (干封扁囊剂): 参见 Cachets。

Ear drops (滴耳剂): 参见 Drops。

Eclectus (药糖剂): 参见 Linctus。

Eclegma (舔膏剂): 参见 Lohoch。

Effervescent salts (泡腾盐): 参见 Salts, effervescent。

Elaeosacchara (油糖剂): 参见 Oil sugars。

Elastic capsules (软胶囊): 参见 Capsules, soft。

Electuaries (药糖剂): 药糖剂是由干燥的药物, 特别是粉末与糖浆或蜂蜜混合制备的糖膏剂, 用于改善味觉, 便于口服。《美国国家处方集》(1836年)指出药糖剂“应不能过软而导致各成分分离, 也不能过硬而妨碍其不经咀嚼的吞咽”。法国作者推荐使用红糖浆制备药糖剂, 因为与精制糖相比, 红糖浆不易结晶。名词 Electuaries 来源于 ek 和 leichein, 意思分别为“向外”和“舔”<sup>[2,13]</sup> (见 Confections)。

Electuarium (干药糖剂): 见 Confections。

Elixirs (酏剂): 酏剂系指含糖、水、酒精的芳香液体药物制剂, 19世纪中叶开始在美国普及。这一名词从表面上看, 由阿拉伯语 al-iksir (希腊语为 xirion) 衍生而来, 实际上是指“干燥粉末”。酏剂成为药品与炼丹术有关。红色酏剂是最有名的一种炼丹混合物, 据推测可以将汞转变为金或延长寿命。这一术语由 Paracelsus (1493~1541年)

的随从提出, 并且应用于液体制剂中。欧洲酏剂通常味道较苦。美国最早的酏剂之一是由宾夕法尼亚州的兰开斯特的 John T. Heinitch 制造的奎宁兴奋剂酏剂 (约 1838 年)。内战后, “酏剂风潮”盛行, 引起了许多公司的商业竞争。这种“热潮”与其他制剂的发展, 促使第一部《美国国家处方集》于 1888 年出版<sup>[25,26]</sup>。

Embrocatio (涂布剂): 参见 Liniments。

Emplastrum (硬膏剂): 参见 Plasters。

Emulsions (乳剂): 乳剂系指两种互不相溶的液体相混合, 通常为水和油, 一种液体以小液滴状态分散于另一种液体中形成的制剂。19世纪末以前, 这一术语仅应用于天然乳状液, 如与牛奶相似的杏仁和水。1674年, 内科医师 Grew 向英国皇家学会报道了一种用油和卵黄制得的制剂。18世纪初期, 使用阿拉伯胶、蜂蜜、西黄蓍胶及其他天然乳化剂制得了其他乳剂。19世纪, 建立了湿胶法 (约 1850 年) 和干胶法 (约 1870 年) 作为标准制备技术。随着新型乳化剂的发展, 对药用乳剂的关注在 20 世纪前期和中期达到高峰。乳剂最初记载在《美国药典》的“混合物”章节中, 到第 7 版 (1890 年) 才单列出来<sup>[4]</sup>。

Emulsum (乳剂): 参见 Emulsions。

Enemas (灌肠剂): 灌肠剂系指注入直肠和结肠的含药或不含药的液体注射剂, 用于清空肠的下部或者将食物或治疗用药物灌入肠中。灌肠剂是将治疗物质引入机体的最古老、最常用的方法。其起源已在史学上无从追溯, 然而埃及早在公元前 1000 年以前便有文字记载灌肠剂用于清洗肠道、施予药物。早期的灌肠剂由三部分组成: 载体 (通常为水、啤酒或牛奶)、润滑剂 (通常为油或蜂蜜) 以及药物。希腊历史学家 Herodotus (公元前 5 世纪) 将埃及人良好的身体状况归功于灌肠剂的使用, 而且认为他们的熟练使用源于通过肛门注入尸体防腐液的实践。然而蒲林尼 (Pliny, 公元 1 世纪) 认为: 埃及人看到朱鹭用它们弯曲的嘴自己灌注尼罗河水作泻药而受到启发, 学会使用灌肠剂。希波格拉底 (Hippocrates) 推荐用灌肠剂治疗发烧和便秘。其他古代作者, 如盖伦和 Oribasius, 详尽地记载了可以灌肠给药的物质。十一二世纪的阿拉伯医师首次详细描述了灌肠装置。Albulcasis 介绍了一种在肛管或漏斗上系上动物膀胱或羊皮做成的袋子而制得的装置。15 世纪初, 开始使用金属活塞注射器, 代替了这种粗陋的袋子。灌肠注射器立即成为许多药物设计的目标, 尤其是在法国。15 世纪 80 年代, 路易斯十一患了严重的脑卒中并恢复健康, 归功于使用了灌肠剂。由此, 灌肠剂在法国风靡了 400 年, 法国人也改良了注射装置。莫里哀 (Molière) 在作品中多次提及灌肠剂; 1580 年左右, Ambrose Paré 设计了一种可以自我灌肠的注射器。17 世纪, 又设计出其他一些特殊的装置, 可以使烟草烟雾灌肠给予。1668 年荷兰解剖学家 Regner de Graaf 首次完成了对灌肠剂的系统性研究。18 世纪中期, 橡胶开始应用于灌肠剂装置中, 代替了皮袋。19 世纪 20 年代, John Read 研制了一种带有球形人造瓣膜的双通注射器 (第一个现代洗胃器), 也可以用于灌肠。随后开发

了弹簧注射器和其他先进的注射器,然而在19世纪末以前,由于灌肠使用不当,尤其是在较高压力下灌肠,造成的危害非常明显。20世纪中期前,灌肠剂又重新采用最原始的方法,利用简单的漏斗和重力作用给药。灌肠剂也称作 clysters 或 glysters<sup>[27,28]</sup>。

Enteric-coated capsules (肠溶胶囊): 参见 Enteric-coated doses。

Enteric-coated doses (肠溶制剂): 肠溶制剂系指通过包衣或化学修饰,阻止药物在胃中崩解而在肠道中崩解的制剂。当药物易被胃中的酶分解或失活或者当药物对胃黏膜有刺激时,使用肠溶包衣。太平洋医学和外科学杂志(*The Pacific Medical and Surgical Journal*, 1860年)指出柯罗定(collodion)可以保护药丸不在胃中溶解,然而以胃不溶性为基础的给药方法通常认为是德国皮肤科医生 Paul Unna 提出的,Paul Unna 于1884年介绍了角蛋白包衣丸。1891年,Ceppi 提出水杨酸苯酯也可以用于肠溶包衣。另一种特殊的肠溶衣是硬明胶胶囊,用软明胶或硬明胶与甲醛相互作用,直到在胃中不溶而在肠中溶解,即得。1895年,Weyland 在瑞士开发出硬化过程,同年 Hausmann 在德国申请专利。药剂师们也曾用临时用水杨酸苯酯、角蛋白、酪蛋白和虫胶,或用硬脂酸正丁酯、巴西棕榈蜡和硬脂酸的混合物将胶囊、药丸和片剂包衣。早期的肠溶衣专利都是关于角蛋白(Pohl,德国,1885年)、膜囊包被的脂质胶囊(Webb 和 Webb,英国,1906年)以及安息香包衣胶囊(Horigan,1928年)等的。后来的包衣专利应用硝酸和醋酸纤维素(Volwiler,1928年)、纤维素酯和醚与皂化有机物联用(Glaessner,奥地利,1931年)、氨漂白虫胶(Wruble,1933年)、硬脂酸、巴西棕榈蜡、凡士林、赤榆皮和琼脂(Miller,1935年;Worton,1938年),以及松香酸、油酸和安息香酸与松香酸甲酯联用(Eldred,1937年)等。从1940年开始,对肠溶衣的研究主要集中在不溶于酸的树脂类聚合物的合成上,如邻苯二甲酸醋酸纤维素(Hiatt,1940年)、甘油硬脂酸邻苯二甲酸酐酯(Volwiler 和 Moore,1940年)等<sup>[4,5,12,17]</sup>。

Enteric-coated pills (肠溶丸剂): 参见 Enteric-coated doses。

Enteric-coated tablets (肠溶片剂): 参见 Enteric-coated doses。

Epispastics (起疱剂): 起疱剂系指在表皮下产生血浆排出物,形成水疱的局部药物制剂。也称作 vesicatories<sup>[13]</sup>。

Epithema (上皮层给药制剂): 上皮层给药制剂的组成成分及其局部用药与软膏剂或硬膏剂不同。液体上皮层给药制剂包括热敷,软上皮剂包括泥敷剂,干上皮剂包括干粉药袋<sup>[20]</sup>。

Escharotics (腐蚀剂): 腐蚀剂(参见 Caustics)<sup>[5]</sup>。

Essences (香精): 名词 essences 有时指精油或简单酊剂,通常可以与 spirits (酊剂) 互换<sup>[20]</sup>。

Essencia (香精): 参见 Essences。

Extracta (浸膏剂): 参见 Extracts。

Extracts (浸膏剂): 浸膏剂系指将药物用适宜的溶剂浸提并蒸发,调整产物至标准规定糊状或半固体物质或者干燥固体或粉末。浸膏剂使药物的有效成分保持在浓缩的、相对均匀的、稳定的状态,并且适合给药。《爱丁堡药典》(1817年)和《都柏林药典》(1826年)将由浸渍、煎煮或药酒制得的浸膏与由植物液汁制得的浸膏区分开来,后者也叫浓缩汁(succi spissati 或 inspissated juices)。浸膏剂有三种形式:半流体或糖浆状稠度的浸膏剂、称作丸剂或软浸膏剂的可塑性丸剂块以及称为干浸膏剂的干燥粉末<sup>[4,5,13]</sup>。

Extractum (浸膏): 参见 Extracts。

Eye drops (滴眼剂): 参见 Drops。

Eye washes (洗眼剂): 参见 Solutions, ophthalmic。

Fluidextracts (流浸膏剂): 流浸膏剂是一种浓缩液体制剂,代表植物药的有效治疗成分。每1mL流浸膏剂相当于1g原有药材的活性。通常用乙醇在溶媒中以渗漉法制备。1850年,流浸膏剂首次被收录在《美国药典》中,当时共有5种流浸膏剂。19世纪末,流浸膏剂达到全盛时期,几乎有100种收录药典。Joseph Remington 称流浸膏剂为“美国制剂”,因为流浸膏剂是由美国药学家 William Procter Jr. 和 Edward Squibb 开发出来的。流浸膏剂稳定、浓度较高,所含药物与浸出物的浓度关系恒定,因而从本质上来讲是一种植物制剂。自20世纪以来,化学合成药物彰显优势,流浸膏剂除用作调味剂外,几乎不再使用<sup>[1,19,29]</sup>。

Fluidextractum (流浸膏剂): 参见 Fluidextracts。

Fluidglycerates (甘油流浸膏): 甘油流浸膏是流浸膏剂的一种,以甘油和水的混合物代替乙醇和水为溶媒渗漉。这种浸膏的制备于1908年由 Beringer 提出。甘油流浸膏曾短暂收录于《美国国家处方集》第5版至第7版(1926~1942年)<sup>[3]</sup>。

Fluidglyceratum (甘油流浸膏): 参见 Fluidglycerates。

Fomentations (热敷剂): 热敷剂系指用温水或药物汤液浸湿布料而制成的外用制剂。麻醉药品有时使用这种制剂。干热敷剂是用布包裹加热块外用<sup>[5,20]</sup>。

Fomentum (罨敷剂): 参见 Fomentations。

Fotus (热敷剂): 参见 Fomentations。

Frontalia (额用制剂): 将药物应用于前额的制剂<sup>[20]</sup>。

Gargarisma (含漱剂): 参见 Gargles。

Gargles (漱口剂): 漱口剂系指含服在口腔中并与咽后部接触的液体制剂,服用后摇动头部,由喉头的空气来搅动药物<sup>[20]</sup>。

Gauzes, antiseptic or medicated (消毒纱布或药用纱布): 参见 Dressings, medicated。

Gelatin capsules (胶囊): 参见 Capsules。

Gelatina (明胶剂): 参见 Gelatins。

Gelatins (明胶剂): 明胶剂是一种内服或外用的凝胶状半固体制剂<sup>[5]</sup>。

Gelatum (凝胶剂): 参见 Gels。

## J

**Gels (凝胶剂):** 凝胶剂是一种富含液体的半固体有机或无机胶体, 由含水的线状或颗粒状分散相均匀分布在分散介质中而形成。尽管 Francesco Selmi 在 19 世纪 40 年代就开始研究无机胶体, 然而现代胶体科学产生于 1861 年, Thomas Graham 对扩散和透析进行研究, 并且提出了胶体、胶、溶胶凝胶、胶溶作用和胶体凝固的概念。20 世纪初, Freundlick 将术语“亲液”和“疏液”引入胶体的概念中, 用来描述分散相与分散介质的亲和力。1950 年, Weiser 将胶体分为: 无机凝胶剂, 包括胶状沉淀物(如氢氧化镁合剂)和无机胶冻剂(如皂土糊); 有机凝胶剂或称胶冻剂(如果胶糊); 结晶或非结晶胶冻状网络, 其固相和液相都是连续的(参见 Magmas)<sup>[4]</sup>。

**Globules (球剂):** 球剂即糖丸(参见 Pills)。也可以是圆形或椭圆形甘油明胶胶囊(参见 Pearls)<sup>[5]</sup>。

**Glutoid capsules (甲醛明胶胶囊):** 参见 Capsules, glutoid。

**Glycerinum (甘油制剂):** 参见 Glycerites。

**Glycerites (甘油剂):** 甘油剂是药物的甘油溶液, 引入第 5 版美国药典(1873 年)中。甘油剂为苯酚、鞣酸、焦油和其他不易溶的物质制得水溶液提供了快速而简便的方法。这类制剂在英国称 glycerins<sup>[4,5]</sup>。

**Glyceritum (甘油剂):** 参见 Glycerites。

**Glycerogelatin (甘油凝胶剂):** 甘油凝胶剂是一种软质含药块, 通常模制成块状, 在体温下熔化, 其基本处方是明胶、甘油和水的混合物; 通常《美国药典》用甘油酯凝胶是其基本组成成分。使用时, 凝胶块熔化, 液体用柔软的刷子刷在皮肤上。《美国国家处方集》第 3 版(1906 年)中收录了四种甘油凝胶剂, 并且在第 8 版中保留了甘油凝胶剂的通用处方。在“明胶”的题目下, 《英国药典》(1922 年)中也引入了与甘油凝胶剂相似的制剂, 它所收录的制剂更接近于皮肤用泥膏剂, 或者更倾向于口服, 称作 jellies (凝胶剂)<sup>[4,5]</sup>。

**Glycerogelatinum (甘油凝胶剂):** 参见 Glycerogelatin。

**Glysters (灌肠剂):** 参见 Enemas。

**Gossypium (棉):** 棉花(参见 Dressings, medicated)。

**Granula (颗粒剂):** 颗粒状泡腾盐(参见 Salts, effervescent)。

**Granules (颗粒剂):** 颗粒剂是一种球状小糖丸, 在吞服前用药物溶液饱和。它也可以是 0.06g 或更小的小丸, 有时也称 parvules (小丸), 由微湿的糖丸(或精制糖)与糖浆组成, 活性成分溶解在糖浆中。颗粒剂含有 1mg 有效成分, 如亚砷酸或乌头, 由于它体积小、剂量精确、药效高, 在欧洲尤其是意大利的医生中很受欢迎(参见 Dragées; 另见 Pills)<sup>[4,23]</sup>。

**Gums (树胶):** 树胶是植物中的黏性、非结晶性、透明或半透明的葡萄糖酐成分, 可以内服(镇痛剂或祛痰剂)、外用(软化剂或保护剂)或者起乳化作用。树胶分为三种类型: 阿拉伯胶, 完全溶于水; 西黄蓍胶和樱胶, 部

分溶解于水中或与水接触后膨胀; 胶浆和果胶, 膨胀形成凝胶。许多树胶是上述几种类型的胶的复杂的混合物<sup>[5]</sup>。

**Guttae (滴剂):** 参见 Drops。

**Hard capsules (硬胶囊):** 参见 Capsules。

**Haustus (顿服剂):** 参见 Draughts。

**Homeopathic tinctures (用于顺势疗法的酊剂):** 参见 Tinctures。

**Homeopathic triturations (用于顺势疗法的研磨制剂):** 参见 Triturations。

**Honeys (蜜剂):** 用蜂蜜为赋形剂的制剂<sup>[8]</sup>。

**Infused oils (油浸剂):** 参见 Oils, infused。

**Infusions (浸剂):** 浸剂系指将植物药用冷水或热水(不是沸水)浸泡而制得的水溶液<sup>[8]</sup>。

**Infusum (浸剂):** 参见 Infusions。

**Inhalants (吸入剂):** 吸入剂系使用吹粉器或将药物混悬于液化的抛射剂中, 置于低压气溶胶容器中, 将细粉或液体药物带入呼吸道的一种产品。干粉吸入剂通过一种特殊的装置使药物细粉进入呼吸道。吸入剂也指具有较高蒸气压, 可以在气流的作用下进入鼻腔道发挥药效的药物或混合药物。后一种吸入剂, 系将药物用纤维物质吸收后, 装入吸入器中, 吸入器是带盖的塑料或金属管, 用于防止药物在保存过程中的损失。患者揭开盖子, 将装置开口插入鼻孔, 从吸入器中吸气而获得药物<sup>[4]</sup>。

**Inhalatio (吸入剂):** 参见 Inhalations。

**Inhalations (吸入剂):** 吸入剂系指通过吸入气体或水蒸气给药的一种制剂。许多技术和用药目的都属于这种给药方式。18 世纪末, Priestley、Scheele 等对气体的分离纯化, 促使 Thomas Beddoes 于 1798 年在英国成立了治疗肺部疾病的肺部学会(Pneumatic Institute)。用于吸入疗法的气体有氧气、一氧化二氮和醚。19 世纪 40 年代, 在美国人 Crawford Long、Horace Wells 和 Morton 的努力下, 气体被用于外科麻醉; 他们的创新是美国公民为医药卫生事业做出的第一个伟大贡献。19 世纪, 气体的医疗用途尤其是在治疗结核病方面, 得到了持续的进步。在此期间, 设计了各种装置来气化液体药物, 治疗肺部病症。1860 年, Berson 研制出第一个雾化装置, 这种装置将吸入器和喷雾器相结合, 通过加热密闭容器中的水产生蒸汽而操作。这种装置在家庭使用中非常流行, 目前仍应用于家庭医疗保健中。名词 inhalation 应用于制剂方面, 更准确地说, 应叫 inhalants (吸入剂), 如桉树混合物吸入剂, 或者称 sprays (喷雾剂), 肾上腺素吸入剂(参见 Inhalants 和 sprays)<sup>[24,30,31]</sup>。

**Inhalations, dry (干粉吸入剂):** 参见 Inhalants。

**Injectio (注射剂):** 参见 Injections。

**Injections (注射剂):** 注射剂系指通过静脉、皮下、肌肉和脊椎注射而给药的灭菌溶液或混悬液。名词 Injections 也作为液体制剂的一种收录在第 5 版《美国国家处方集》(1926 年)中, 指皮下注射用安瓿溶液剂。早在古代, 人类就发明了通过刺破皮肤而用药, 他们用毒箭治疗毒蛇和昆

虫咬伤,然而首次应用皮肤给药的方法始于皮肤接种治疗天花。人接种天花病毒的技术,是用浸泡在活动病例的脓汁中的针将机体穿刺,这项技术在东方国家实践了数个世纪后,1717年才引入西医中。1796年,Edward Jenner(1749~1823年)利用牛痘疮上的物质,首次实施牛痘接种。1657年,Christopher Wren先生首次静脉注射药物,这次实践于1662年被英国从业者Johan D. Major记载在文章“Chirurgica 纤毛虫”中。医生们也尝试了注射水、阿片、砷、肉桂、肉桂油和其他物质,产生了有限的和常常致命的结果。注射催泻药,如jalap树脂,在治疗梅毒中非常流行。然而,静脉注射的成功应用要归功于19世纪后半期Pasteur、Koch、Lister等提供的疾病微生物学理论依据和灭菌方法的发明;归功于皮下注射器的采用——1853年里昂的Charles G. Pravez发明了皮下注射器,1855~1858年爱丁堡的Alexander Wood和伦敦的Charles Hunter将皮下注射器推广开来,1894年Luer将其改良;归功于1866年由Stanislas Limousin发明的安瓿。1867年,伦敦的皇家医学和外科协会委员会认可了皮下注射,同年出版的英国药典中首次收录了注射剂——左吗南皮下注射剂。当时这些溶液没有进行灭菌,然而Squibb(1873年)等建议注射用溶液可以添加少量苯酚、水杨酸、三氯甲烷或樟脑保存。大约同一时期(1875年),John Tindall发明了间断性加热的灭菌程序,并用他的名字命名。然而,皮下注射获得广泛认可比较缓慢,因为医生们渐渐意识到使用粗制注射剂后引起的发热和其他中毒症状。Ehrlich使用的治疗梅毒的撒尔佛散皮下注射剂(1910年)大大推动了非胃肠道给药的发展,促进了技术上的飞跃。1911年,Martindale和Wynn探讨了撒尔佛散的制备方法,重点讨论了灭菌和防腐。同年,Hort和Penfold引用“热原”这一术语来描述注射剂中引起发热反应的物质。他们发现密封在灭菌容器中的蒸馏水引起了中毒症状,而新鲜蒸馏水不引起中毒;同年末,Wechselmann发现如果使用无菌蒸馏水配制溶液,不会引起发热反应。Seibert于1923年证实了这些结论,并且指出构造不合理的蒸馏器会产生致热蒸馏水。1930年,Rademacher制定了一套严格的无菌防范措施和规章制度,控制注射用液体制剂,目前依然有效,并且使现代静脉注射剂步入了一个新的阶段。注射剂也称作parenterals(非胃肠道给药)<sup>[4, 5, 24, 32, 33]</sup>。

Insessia(蒸汽浴):通常让患者坐在凿孔的椅子上,下面放置盛满热水或热的植物药汤剂的大容器<sup>[20]</sup>。

Insufflatio(吹入剂):参见Insufflations。

Insufflations(鼻吸入剂):鼻吸入剂系指吹入鼻腔中的粉末。通常使用各种吹粉器或吸入器将药物吸入鼻腔,也可以像吸鼻烟一样直接吸入,也可以就是指鼻烟。该名词来源于拉丁语insufflare,意为“吸入”或“吹入”<sup>[2, 5]</sup>。

Inunctions(涂擦剂):涂擦剂是一种涂擦使用的软膏,为局部给药制剂,吸收迅速。涂擦剂原来系指由加有汞或其他药用成分的羊毛脂制得的制剂。复方薄荷醇涂擦剂(1936年重命名为复方薄荷醇软膏)在1960年以前一直收

录在美国国家处方集中<sup>[5, 24]</sup>。

Inunctum(涂擦剂):参见Inunctions。

Irrigating solutions(灌洗液):参见Solutions, irrigating。

Irrigatio(灌洗剂):参见Solutions, irrigating。

Jellies(胶冻剂):参见Gels。

Juices(汁剂):汁剂是通过挤压新鲜植物组织而得到的液体制剂。《英国药典》(1949年)中有大蒜、柠檬和蒲公英汁的专论。在美国,樱桃汁作为调味剂收录在第16版美国国家处方集(1985年)中<sup>[4]</sup>。

Juices, inspissated(浓缩汁剂):由植物汁浓缩而制得的浸膏(见Extracts)。

Juleps(药制饮料):药制饮料是一种甜饮,通常是缓和的、微酸的黏性混合物。在欧洲比在美国流行,19世纪末典型的药制饮料(树胶糖合剂)为10份阿拉伯胶与30份阿拉伯胶糖浆、100份水、10份橘花水研磨而得<sup>[3, 20]</sup>。

Konseals(扁囊剂):Konseals是1885年波士顿的J. M. Grosvenor公司制造的一种扁囊剂和扁囊剂装置的商品名称,最初由布拉格的Karl Morstadt以“Morstadt扁囊剂”为名提出(见Cachets)<sup>[5]</sup>。

Lamella(薄片剂):参见Lamels。

Lamels(眼片剂):眼片剂是直径约3mm的小圆盘,含有定量的各种眼科用药,通过切割或压制甘油明胶薄膜而得。眼片剂,或称眼用圆片剂,给药时借助骆驼毛刷抹下眼睑的内表面,药物即立刻溶解在泪液中。到1953年为止,共有4种眼片剂收录在英国药典中<sup>[24]</sup>。

Lavatio(灌洗液):参见Washes, mouth。

Ligamentum(绷带):参见Bandages。

Linctus(舐膏剂):舐膏剂是一种必须从勺子或甘草棒上舔得的黏稠液体,来源于拉丁语lingere,意为“舔”(参见Lohochs)<sup>[5]</sup>。

Liniments(搽剂):搽剂是一种外用制剂,稠度比水厚,但比软膏稀,通常用手轻轻揉搽皮肤而使用。搽剂以及与之相关的硬膏剂、软膏剂都属于最古老的剂型。这一名词大约起源于1600年。干性搽剂是涂在皮肤上就变干、形成含药薄膜的制剂,可以用水擦去<sup>[5, 8, 19]</sup>。

Liniments, dental(牙用搽剂):牙用搽剂在牙科专家和药学专家的合作下,收录进美国国家处方集V(1926年)中。这种浓缩的、通常是有毒的搽剂,设计为在牙龈内进行摩擦<sup>[5, 19]</sup>。

Liniments, drying(干性搽剂):参见Liniments。

Linimentum(擦剂):参见Liniments。

Linimentum, exsiccantum(干燥搽剂):干性搽剂(参见Liniments)。

Lints, antiseptic or medicated(消毒或含药绒布):参见Dressings, medicated。

Lintum:绒布(参见Dressings, medicated)。

Liquor(溶液制剂):参见Solutions。

Litus(涂布剂):系指用刷子涂抹的液体制剂(参见



Paints, medicinal)。

Lohochs (舐膏剂): 舐膏剂是一种稠厚的糖浆状制剂, 通常用于治疗咳嗽, 慢慢抿或舔服, 有时也称 looch。相当于后来的 linctus<sup>[5]</sup>。

Looch (咳嗽糖浆): 参见 Lohochs。

Lotio (洗剂): 参见 Lotions。

Lotions (洗剂): 洗剂是一种外用液体制剂, 通常含有混悬的不溶物。与搽剂的不同之处在于其本质是水溶液, 而不是油脂或乙醇制剂。洗剂在第 1 版美国国家处方集 (1888 年) 中便被收录。19 世纪中叶, 洗剂常用于浸湿亚麻布, 放置在感染部位<sup>[1,20]</sup>。

Lozenges (锭剂): 参见 Troches。

Magisteries (沉淀剂): 由盐水溶液的某种沉淀物而得名, 然而常常应用于秘方<sup>[20]</sup>。

Magmas (糊剂): 在现代药剂学中, 名词“糊剂”精确地说, 表示含有无机沉淀物的水溶性制剂。铋糊剂和镁糊剂 (镁乳) 是美国药典 IX (1916 年) 收录得最早的糊剂。19 世纪和 19 世纪前, 糊剂表示压榨有机物去除液体后得到的滤渣, 通常指残渣<sup>[19, 20]</sup>。

Massa (丸剂块): 参见 Masses。

Masses (丸剂块): 丸剂块系指由药物活性成分与稀释剂或填充剂和其他的赋形剂组成的塑性半固体药物制剂, 可以不经处理或稍处理制成丸剂。丸剂块有三大基本要素: 具有黏性 (药块必须足够黏而保持其形状, 必须足够软而用手指或适宜的装置可以将其制成相应的形状); 坚硬 (药块必须具有足够的硬度使丸剂保持其形状); 可塑性 (由于具有适当的黏性和硬度而固有的属性)。随着现代医学的变革, 目前仅幸存了两种丸剂块: 汞丸块 (或称蓝丸块) 以及碳酸亚铁丸块 (或称 Vallet 丸块)。前者是一种利胆制剂, 收录在《美国国家处方集 IX》(1950 年) 中; 后者是一种补血药, 收录在《美国国家处方集 X》(1955 年) 中<sup>[4, 5, 24]</sup>。

Medicated cottons (含药棉): 参见 Dressings medicated。

Medicated dressings (含药敷料): 参见 Dressings medicated。

Medicated gauzes (含药纱布): 参见 Dressings medicated。

Medicated oils (含药油剂): 参见 Oils。

Medicated paints (含药涂布剂): 参见 Paints medicated。

Medicated papers (含药纸): 参见 Papers medicated。

Medicated pencils (药笔剂): 参见 Pencils medicated。

Mel (蜜剂): 参见 Honeys。

Mellita (蜜剂): 参见 Honeys。

Milks (乳液): 在历史上, 名词 milk 通常指外部形态为乳状物的液体, 如镁乳。传说有一种美容制剂叫“toilet milks”, 来自于 Cleopatra 和她的牛奶浴。在现代, 乳液系指水包油型乳剂, 由其外观和作为沐浴添加剂的用途而得名。而且, 真乳液也被使用并改良, 特别是加入麦芽, 作为药用饮料。发酵乳或 kumyss, 通过在新鲜牛奶中加入糖和发酵粉发酵而制得。发酵乳收录在第 3 版至第 5 版

《美国国家处方集》(1906~1926 年) 中。母乳化牛奶是在牛奶和新鲜奶酪中, 加入含有少量抑肽酶粉末和乳糖混合物的人源性奶粉制得的, 收录在《美国国家处方集 III》(1906 年) 中<sup>[7, 34]</sup>。

Mistura (混合剂): 参见 Mixtures。

Mixtures (合剂): 合剂系指含有不溶性非脂肪性物质的水溶性制剂, 供内服使用。与乳剂的区别在于其不含脂肪, 与搽剂的区别在于内服。合剂和乳剂最初在美国药典中都属于混合剂 (Mistura), 到了第 7 版 (1890 年), 乳剂分列出来。合剂的示例有: 阿片和甘草复方合剂 (棕色合剂), 驱风合剂 (Dalby 驱风剂), 柯拜巴脂合剂 (Lafayette 合剂), 柯拜巴脂和阿片合剂 (Chapman 合剂), 氧化镁、阿魏胶和阿片合剂 (Dewees 驱风剂), Oleobalsamic 合剂 (Hoffman 香脂), 阿片和三氯甲烷复方合剂 (施贵宝腹泻合剂), 以及祛痰合剂 (Stokes 祛痰剂) 等<sup>[3, 5]</sup>。

Mouth washes (口腔洗剂): 参见 Washes mouth。

Moxa (艾): 艾是一种由可燃性物质形成的锥剂, 用于灼烧 (参见 Cones)。通过燃烧艾而进行的艾灸疗法, 是中国古代对抗刺激和烧灼的古老的方法。将可燃性有机物制成的小锥剂 (最初是 Artemisia 艾或普通艾蒿) 放置在皮肤的某一部位, 点燃后, 让其火力慢慢减弱, 形成水疱。17 世纪艾传入西药中, 治疗痛风, 随着其他灼烧形式的出现, 一个世纪后便不再使用<sup>[5, 28]</sup>。

Mucilages (胶浆剂): 胶浆剂系指一种将胶状物质溶解或混悬在水中形成的黏性制剂。这一名词来源于拉丁语 mucus。天然胶状物质是从树木或灌木的分泌物中得到的碳水化合物。古埃及已经开始使用树脂。希波克拉底 (大约公元前 400 年) 的著作中曾提及阿拉伯胶。《美国药典》第 1 版 (1820 年) 中收有阿拉伯胶浆剂, 而第 1 版修订版 (1830 年) 中记载了西黄蓍胶浆剂。这两种胶浆都用作增稠剂或防止乳剂分层<sup>[2, 19]</sup>。

Mucilago (胶浆剂): 参见 Mucilages。

Mulla (药布): 参见 Mulls。

Mulls (展膏剂): 展膏剂系指像普通膏药一样涂布在软棉布或薄布上、含有所需药物的高熔点软膏。制备展膏剂最适宜的基质是羊脂和猪脂混合物, 有时加入蜂蜡或油酸铅硬膏。展膏剂的配备方法是在一张湿润的羊皮样纸上用大头钉钉上未上胶水的软布, 用宽而平的硬毛刷涂布上熔化后部分冷却的药膏, 再用两个热弹性刮铲将表面展平。冷却后, 在展膏剂上覆上石蜡纸, 卷成圆筒分发。在美国国家处方集 V- (1926 年) 中收有水杨酸展膏剂、含水杨酸的木焦油展膏剂、腐蚀性氯化汞展膏剂以及锌展膏剂<sup>[6]</sup>。

Muslin, oiled (涂油棉布): 参见 Silk, oiled。

Nasal solutions (鼻用溶液剂): 参见 Solutions, nasal。

Nebula (喷雾剂): 参见 Sprays。

Nodulus: Nodulus 是 nodulus uterinus (子宫结) 的省略语, 是子宫探条的一种形式。

Nose drops (滴鼻剂): 参见 Drops。

Oculentum (眼膏剂): 参见 Ointments, ophthalmic。



Odontalgicum (牙痛药): 参见 Toothache drops。

Oil sugars (油糖剂): 指糖与挥发性和非挥发性油的混合物, 在某种程度上表现为油与水相混溶, 是一种方便儿童用药的给药方式。《美国国家处方集》第 7 版 (1946 年) 中列出了 2% 油糖剂的处方<sup>[5, 13]</sup>。

Oiled silk (油绸): 参见 Silk, oiled。

Oils (油剂): 指所有液体油脂, 即沾在布上形成的污渍无法用水洗掉; 且这种污渍使纸半透明。与其具有相似性质的固体称作脂肪。称其挥发性还是非挥发性油取决于其污渍加热后消失还是仍然存在。一些药用油, 如酚油、磷油在《美国国家处方集》中有简要说明<sup>[3, 31]</sup>。

Oils, infused (油浸剂): 指用酒精和氨水将药物软化, 然后再用芝麻油在 60~70℃ 下加热浸提, 直到酒精和氨水完全蒸发而制得的外用油脂性制剂。通常, 莨菪油浸剂用于制备莨菪复方油剂。这种制剂在法国非常盛行, 被称做 baumè tranquille, 用于治疗耳痛<sup>[3]</sup>。

Ointments (软膏剂): 软膏剂是一种供皮肤用的半固体制剂, 使用时需涂擦或不需涂擦。除作为药物局部应用的载体外, 软膏也可以作为皮肤的润滑剂以及阻止皮肤与水溶液和皮肤刺激剂接触的保护剂。软膏通过熔化、灌模或化学反应方法制备。古代人赋予了动物和人类脂肪特殊的功效, 脂肪与树脂、蜂蜡、草药粉末以及矿物质的混合物是一种最早的制剂。Ebers 古本 (公元前 1500 年) 中记载了一种不含油脂的软膏, 这种软膏将鹿角精与香料、面粉一起搅拌, 再与甜酒混合而成。希腊人没有区分液体或半固体软膏, 而是根据它们的用途和成分分类。例如, 泥罨剂是一种软化软膏; 而 keroma 是一种蜡制软膏, 是蜡膏剂的前身。植物胶浆、树脂和油, 与蜂蜡混合, 也可以制成软膏。盖仑玫瑰水软膏 (或称冷霜) 是脂肪型制剂最早的分支 (公元 2 世纪) (参见 Creams)。在 13 世纪之前, 药剂专家将油剂或油脂剂 (液态油性软膏)、贴膏剂或硬膏剂 (紧紧贴在皮肤上的药块) 以及油膏或软膏剂 (半固体膏剂) 区分开来, 而且这种概念保持了近 500 年。第 1 部《美国药典》(1820 年) 收录的第一个软膏剂中, 猪脂是主要成分, 然后通过添加羊脂、蜂蜡或鲸蜡保持乳脂的稠度。然而, 19 世纪中叶, 天然软膏基质开始被人造基质所代替, 人造基质的应用与它们的用途密切相关。1858 年, Schacht 引用淀粉的甘油溶液, 通过在特定温度下加热一定比例的甘油和淀粉制得了一种半透明胶冻; 1873 年, Miller 应用凡士林制备“软石蜡和石蜡软膏”; 这两种制剂都于 1880 年收录进《美国药典》。1885 年, 药理学家 Oscar Liebreich 发现了羊毛脂的治疗价值, 羊毛脂是古希腊的 oesypus, 称为 lanolin (羊毛脂), 于 1893 年收入《药典》。后来, 俄国化学家 Lifschuetz 发现了羊毛脂的乳化作用, 这种乳化作用依赖于他分离出的一类成分——游离乙醇 (1895~1898 年)。1907 年, 皮肤科专家 Paul G. Unna 研制了一种新的软膏基质——eucerin, 由 1 份 Lifschuetz 乙醇、20 份石蜡软膏和 20 份水组成, 这种基质是美国羊毛脂制剂的前身。1920~1944 年, 氢化油、硫酸氢化油和磺酸氢化

油、硬脂酸、硬脂酸钠、自乳化硬脂酸甘油酯混合物、聚乙二醇 (如聚乙二醇 400) 以及乙二醇酯 (如聚乙二醇单硬脂酸酯) 变得非常重要, 随之而来的是 1945~1959 年的现代基质如 plastibase (液状石蜡和聚乙烯的复合软膏基质)、活性白土、硅酸镁铝、瓜尔胶、卡波沫和硅酮等<sup>[4, 5, 24]</sup>。

Ointments, ophthalmic (眼膏剂): 系指供眼用的灭菌软膏。通常用刺激性较小的凡士林、凡士林-矿物油和凡士林-无水羊毛脂为基质。为了减少污染, 将活性药物细粉灭菌后, 在无菌条件下用无菌器具加入无菌基质中, 再分装无菌的眼用细管中, 以减少可能的污染<sup>[4]</sup>。

Ointments, softening (软化软膏剂): 参见 Cataplasms。

Oleates (油酸制剂): 通常指将生物碱类药物溶解在油酸中制得的液体制剂。然而, 汞油酸制剂是氧化汞在油酸中形成的软膏样产品。药剂师 Chevreul 以橄榄色 (olives) 命名了油酸 (Oleic acid)<sup>[2, 5]</sup>。

Oleinata (油酸制剂): 参见 Oleates。

Oleatum (油酸制剂): 参见 Oleates。

Oleoresina (油性树脂剂): 参见 Oleoresins。

Oleoresins (油性树脂剂): 系指用选择性溶剂 (通常为乙醚或丙酮) 渗漉、再蒸去全部溶剂, 制得的植物药浸膏。这一概念于 19 世纪 20 年代首次提出; 然后在 William Procter Jr. 的努力下, 1860 年第一次进入《美国药典》<sup>[19]</sup>。

Oleosacchara (油糖剂): 参见 Oil sugars。

Oleovitamins (维生素油剂): 系指鱼肝油制备的制剂, 或者食用植物油稀释的鱼肝油, 或者浓缩维生素的鱼肝油或食用植物油溶液。第二次世界大战期间, 为了弥补由于鱼肝油供给封锁而造成的治疗缺陷, 维生素油剂应运而生。这类制剂作为维生素 A 和维生素 D 的制剂收载在《美国药典 IX》(1942) 的第二增补版中<sup>[31]</sup>。

Oleum (油剂): 参见 Oils。

Oleum infusum (油浸剂): 参见 Oils, infused。

Ophthalmic ointments (眼膏剂): 参见 Ointments, ophthalmic。

Ophthalmic solutions (眼用溶液剂): 参见 Solutions, ophthalmic。

Orbicules (糖球剂): 由糖制得的球剂 (参见 Pills)<sup>[5]</sup>。

Oxymels (醋蜜剂): 含有醋酸或醋的酸味蜜剂 (参见 Honeys)<sup>[4]</sup>。

Paints, medicinal (含药涂布剂): 含药涂布剂系指具有杀菌、腐蚀、缓解或刺激特性的液体药用制剂, 一般通过刷子给药。涂布剂通常附着在火棉胶、甘油、甘油和水、卵清蛋白的乙醇溶液或杜仲胶制备的特定表面上。吸收性涂布剂由油酸和脂肪酸制成。腐蚀性物质通常溶解在蒸馏水、乙醇或醚类介质中使用; 而树脂类物质, 如安息香、苏合香脂、妥鲁香脂或山达酯则溶解于乙醚中, 作为含药的牙科用腔洞材料的基质, 应用于皮肤和被黏液覆盖的破损皮肤表面<sup>[5]</sup>。

Papers, medicated (含药纸剂): 含药纸剂主要作为外

## J

用制剂使用,它或者是用药物将纸饱和,或者是将药用材料通过添加黏性液体黏附在纸张表面。硝酸钾纸剂,在《美国国家处方集》第五版(1926年)中依然保存。而应用最为广泛的却是芥末纸,通常称为芥子硬膏,系将粉末状黑芥和橡胶溶液的混合物铺展在纸张、棉布或其他织物上制成的,保留在《美国国家处方集》第11版(1960年)中。芥子泥罨或泥罨剂,以前依照黑芥的植物学名黑质芥子(*Sinapis nigra*),将其称作芥子泥,在《美国国家处方集》(1936年)中描述为强力发赤药,“通常不到一小时就会产生无法忍受的疼痛”。通常,当患者抱怨感觉非常疼痛时,应当去除泥罨剂;如果患者没有感觉,泥罨剂的保持时间不应超过1h,或最长不得超过2h,除非它被大大稀释,因为它极易导致严重性发炎以及紧随其后的顽固性溃疡。自制的芥子硬膏(等份的芥末和面粉,用温水润湿形成糊状,装入棉布袋中施用于皮肤表面)仍然在民间医学中扮演着重要角色<sup>[5,13,24]</sup>。

Papers, powder (粉末纸剂): 参见 Powders, divided.

Papers, waxed (蜡纸): 系指用熔融蜡或石蜡处理过的类似羊皮纸的纸,大多作为昂贵的保护性敷料的经济型替代品使用(参见 Dressings, protective)<sup>[5]</sup>。

Parenterals (注射剂): 参见 Injections.

Parogenum (石蜡液剂): 参见 Petroxolins.

Parvula (小丸): 参见 Parvules.

Parvules (小丸): 小的糖衣丸,约0.06g或更小,有时被误称为颗粒(又见 Granules)<sup>[4,5]</sup>。

Pasta (糊剂): 参见 Pastes.

Pasta dermatologica (皮肤用糊剂): 供治疗皮肤病用的糊剂(参见 Pastes)。

Pastes (糊剂): 系指在淀粉、糊精、氧化锌、硫磺、碳酸钙或其他药用物质的软膏样混合物中,加入甘油、软皂、凡士林、猪油或其他油脂以及抗菌药或收敛药而制成的均匀膏状外用制剂。早期的糊剂,如甘草糊剂和蜀葵糊剂,均为内服制剂,大多数都具有与橡胶相似的稠度。现代的糊剂由著名皮肤病学家 Paul G. Unna 和 Oskar Lassar 于1900年前后发明。皮肤用糊剂,粉末材料的比例通常比软膏剂高,且比其他外用制剂吸收好,不油腻。英国药典将北美金缕梅乳膏、雪花膏、鞣酸胶冻、插管润滑剂以及泛称为“外用药物制剂,主要用作杀菌、腐蚀、冷却、防护或缓解型敷料”的制剂都归于“糊剂”的名录下。1906年,糊剂正式录入《美国国家处方集Ⅲ》中<sup>[4,5,24]</sup>。

Pastes, dermatologic (皮肤用糊剂): 参见 Pastes.

Pastilles (软锭剂,芳香薰剂): 锭剂的一种,尤指具有巧克力味道的锭剂(参见 Lozenges);也指用于熏蒸消毒的芳香药物的可燃性锥剂(参见 Cones)。该名词最初来源于拉丁语 pastillus,意为“小块”,大约1650年由法语 pastille 引入英语中<sup>[2,5]</sup>。

Pastillus (软锭剂): 参见 Pastilles 和 Cones.

Pearls (珠剂): 指将液体、固体或片剂封装在甘油明胶壳内而制成的圆形或椭圆形胶囊。珠剂的弹性不如软胶

囊,内部没有空气,甘油明胶外壳完全被药物所填满。药剂师可以即时制备珠剂:将软化的甘油明胶片放在一个具有一定数量的半圆形(或其他形状)凹孔的微热模板上;再将一定量的药用液体覆盖在甘油明胶片上,然后盖上第二片甘油明胶片以排除空气。整个装置再盖上一个与之匹配的模板,然后用机械压力压缩形成珠剂。该工艺需要专门器具、费力而又费时,在工业上被持续自动化程序所代替,即将液体注入旋转模具间的两条明胶带之间而制备(参见 Capsules, soft)<sup>[4,5]</sup>。

Pelletta (小丸): 参见 Pellets.

Pellets (小糖丸): 指由乙醇酊剂饱和的蔗糖小丸,主要用于顺势疗法的药物。小糖丸大小各异,可以根据十粒小糖丸的直径以毫米为单位测定。《雷明顿实用药剂学》(Remington's Practice of Pharmacy)(1926年)指出小糖丸“应该由精制的原料制得,应洁白无瑕、无异味,能满足所有关于砂糖或蔗糖的测试的标准要求”(又见 Globules)<sup>[5, 24]</sup>。

Pencils, antiseptic (抗菌笔剂): 参见 Pencils, medicated.

Pencils, astringent (收敛笔剂): 参见 Pencils, medicated.

Pencils, caustic (腐蚀性笔剂): 参见 Pencils, medicated.

Pencils, medicated (含药笔剂): 含药笔剂是一种治疗皮肤病时使用的圆筒状制剂,可以将药用成分直接应用于皮肤上。将药品掺入由淀粉、糊精、西黄芪树胶、蔗糖以及足够的水制得的糊状物中,形成可塑性块状,然后卷成直径约为5mm的圆筒,再分切成5cm长的片段,放在羊皮纸上在室温下干燥后,包在锡纸中即得。加药笔剂可以作为腐蚀剂使用,例如硝酸银棒有时表示腐蚀药。水杨酸笔剂,是最后一个收录在《美国国家处方集V》(1926年)中的加药笔剂;又称作抗菌、收敛、腐蚀性、止痛或止血笔剂<sup>[5]</sup>。

Pencils, salve (止痛笔剂): 参见 Pencils, medicated.

Pencils, styptic (止血笔剂): 参见 Pencils, medicated.

Perles (软明胶胶囊): 参见 Pearls.

Pessaries (阴道栓剂): 指球形或卵形的阴道用含药栓剂,质量在4(用可可油或可可豆脂制成)~10(用甘油明胶做成)g。该名词来源于希腊语,用来描述玩国际跳棋游戏时使用的小石头<sup>[5,35]</sup>。

Pessarium (阴道栓剂): 参见 Pessaries.

Pessum (阴道栓剂): 参见 Pessaries.

Petroxolins (石蜡液剂): 指以液体石蜡或油酸铵为基质制成的外用液体剂。该制剂收录在《美国国家处方集》第六版(1936年)中<sup>[3]</sup>。

Pigmentum (涂剂): 参见 Paints, medicinal.

Pill coatings (包衣丸剂): 参见 Coatings, pill.

Pills (丸剂): 指供口服给药的球形、卵形或豆状的小型固体制剂。丸剂的制备工艺为将药用材料与其他辅料相

混合,形成具有黏性的可塑性块,然后根据需要将其分成一定数量的小块,每一小块可以制成特定的形状。丸剂的质量范围一般在0.1~0.3g。特殊的质量为0.6g或更重的大丸被称为大丸剂;非常小的质量仅为0.06g或更轻的糖衣丸被称为小粒或微粒;小糖丸、球剂或糖球剂都是经乙醇酊剂饱和的小的球形糖粒,大多用于顺势疗法的药物。在远古的美索不达米亚和古埃及时代,当丸剂开始被使用时,它第一次将预期的治疗作用和确定的用药剂量对应起来。希腊人将这种小球状药物命名为katapotia(“可被吞咽的东西”),后来译成拉丁语为catapotium;公元1世纪,名词pilula开始在罗马使用。在相当长的一段时间内,丸剂都作为一种主要的剂型而应用。例如,在马萨诸塞州查尔斯镇,超过一半的处方都是丸剂,1872~1875年的药剂学历史是属于丸剂的。而且,一些复方药也以丸剂的形式存在了几千年。例如鲁弗斯丸剂,由阿拉伯人从最初的苦味药粉制成丸剂,并被Avicenna(980~1033年)进行了普及;现代丸剂,芦荟和乳香脂丸剂,一直收录在第八版的《美国药典》(1905年)中<sup>[4, 5, 36, 37]</sup>。

Pills, compressed (压制片): 参见 Tablets。

Pills, enteric-coated (肠溶包衣片剂): 参见 Enteric-coated doses。

Pilula (丸剂): 参见 Pills。

Pilula comprimata (压制丸剂): 压制的丸剂(参见 Pills)。

Pilula enterica (肠衣丸剂): 包有肠衣的丸剂(参见 Pills)。

Pilules (小丸): 参见 Pellets。

Plasma (乳浆): 非脂肪油质制剂<sup>[5]</sup>。

Plasters (膏剂): 指由能够附着在皮肤上的材料制成的具有一定稠度的外用制剂。橡皮膏具有保护和机械支持作用,而药膏则具有闭合和软化功效,使药物与皮肤紧密接触;把膏剂涂在有孔的布上时,则该产品称作多孔硬膏。膏剂是所有药物制剂中最古老的剂型之一。原始人类已经开始利用泥膏和树叶治愈伤口或缓解疼痛。Ebers papyrus(公元前1500年)记载了几种治疗烧伤的膏剂和泥罨剂,而且希腊人在他们的庙宇中专门安排地方制作膏剂。实际上,单词plaster来源于希腊语emplastron,意为“涂上”或“模制成”。著名的油酸铅硬膏,由油、一氧化铅和特殊的植物汁液制成,大约在公元39年,由Menecrates收集编辑,并以诗歌的形式传送给克劳迪乌斯·盖伦(131~201年),盖伦由此开发了很多实用性的膏剂配方及制备工艺,这些制剂流传了几个世纪。现代保存的油酸铅硬膏以Lead Oleate Plaster(或Lead Plaster)为名,收录在《美国药典》中,后来一直收录于《美国国家处方集》第八版(1946年)中。起初,膏剂直接涂在身体的患处,到16世纪,膏剂开始被涂在亚麻布或皮革制品上,或通过蘸取使用。1514年, Giovanni da Vigo推广了涂布膏剂的应用,并称其为sparadraps(膏药)或spasma draps;1691年, William Salmon在他的《伦敦药典》中描述了浸蘸式蜡布剂。

膏剂通常在刮刀或经过酒精灯加热的硬膏剂熨斗的帮助下涂铺,这是一个既费力又费时的过程,需要药剂师们有足够的耐心使难以处理的膏剂保持温度和可延展性。虽然巴尔的摩市的Elisha Perkins获得了第一个制备膏剂的专利(1830年),但是新泽西州Camden的John C. De La Cour被普遍认为是机械铺展橡皮膏的最早的制造者(1836年),同时这种橡皮膏也是美国在商业上最早制造的剂型之一。1852年,一个名叫Mather的英国药剂师发明了一种通过使用加热滚筒而将膏剂涂敷在皮革上的方法,从而制造出更薄、更均匀的产品,并获得了专利;同时这也让Edward Parrish在他的经典文章“美国药剂学”(1856年)中记载道,“以前,铺展药膏原是药剂师业务的一个重要组成部分,但现在,已经被使用机器生产的制造业者所垄断”。唯一一个直到今天仍有重要用途的膏剂是在《美国药典》中收录的水杨酸硬膏剂,通常称为玉米硬膏剂(同时参见Plasters, adhesive和Plasters, porous)<sup>[4, 5, 15, 24, 38]</sup>。

Plasters, adhesive (橡皮膏剂): 在橡胶、树脂和蜂蜡的混合物中,加入吸收性粉末如氧化锌、香薷根或淀粉为填充剂,通过机械混合并涂铺在棉布上即得。早期的橡皮膏剂由涂铺在白洋布、软棉布或亚麻布上的树脂和一氧化铅或油酸铅硬膏组成。1843年,英国利物浦的Rowland报道了一种“印度橡胶鱼胶硬膏”,系指将天然橡胶溶解在石脑油或松节油中,然后将液化的橡胶铺在丝绸或缎子上而制成。两年后,纽约的Horace Day和William Shecut将天然橡胶和树脂的混合物制成膏剂块,并获得专利。1852年,英国Surrey城的Benjamin Nickels获得了一项“弹性膏药”的专利,即将黏性物质结合在弹性纤维上。1863年,马萨诸塞州Lowell城的Joshua Melvin申请了一项生产滚筒式或圆筒状橡皮膏剂的专利。到20世纪早期,出现了两种以橡胶为基质的橡皮膏剂:外科用的浅黄色橡皮膏剂,和白色的、包含氧化锌的氧化锌橡皮膏。现代的橡皮膏剂由乙烯树脂、增塑剂和其他可以使其在严格的温湿度环境下保持黏附性等性能且对皮肤无刺激的化学添加剂组成。橡皮膏剂一直到第19版都被《美国药典》(1975年)所收录(参见Plasters和Plasters, porous)<sup>[5, 15, 24]</sup>。

Plasters, Blister (发泡膏剂): 指用以产生炎症、水疱或脓疱的膏剂。许多发泡剂可以用来制备发泡膏剂,但药效较强的斑蝥(或西班牙绿芜菁)应用最为广泛。古代人通常将发泡膏剂内服,虽然他们深知,即便是外用,发泡膏剂也容易产生血尿症。Aretaeus在2世纪发明了一种以斑蝥为发泡剂的外用制剂,用于剃头以减轻头痛。这种治疗方式同样适用于癫痫症和眩晕症,并且持续了几个世纪,但是只能在患者喝了3天牛奶以避免膀胱损伤后使用。“在许多组织中,会引发痛性尿淋漓,特别是在血浆排出的地方尤为严重”,一本药理学论著的英文教科书在1730年写到,“但是,无论如何,当患者精神错乱并频发高热时,这种治疗还是必需的”。一个世纪后,《美国国家处方集》(1836年)中讨论了斑蝥蜡膏的用途,在《市售普通发泡膏剂》一文中指出:

当需要使用斑蝥，且需要使其维持长久的疗效时，将制剂持续使用 12h……然后去除膏剂，接着使用面包和牛奶制成的泥鳅剂或其他一些皮肤缓和性敷料，放置在角质层增加、产生完整水疱的部位上。通过这种方法患者可以避免痛性尿淋漓，水疱也会在血清排除后很快愈合。

1830 年，巴尔的摩市的 Elisha Perkins 获得了一项发疱膏剂制备设备的专利。1831 年，费城的 George W. Carpenter 开始推广和销售 Perkin 发疱织物，称其为“对乡村医生们来说是一个非常方便的物品，可以随时展开、立即使用”。斑蝥蜡膏正式收录在《美国药典》中，稍后在 1950 年，又被《美国国家处方集》收录<sup>[13,15,28]</sup>。

Plasters, porous (多孔硬膏剂)：指涂铺在有孔编织物上的橡皮膏剂。William Butts 先生，亨利八世的皇家医师，研制出一种被刺破而“充满小孔”的“spasmodrap 膏剂或 dypped 膏剂”。1845 年，纽约的 Horace Day 和 William Shecut 发明了以橡胶为基质的多孔硬膏，所有的微细孔“能够使排出的汗自由流出”，并获得专利。1854 年，伦敦的 Somerville Scott Alison 因为一种多孔的或“穿孔的羊皮纸……根据一种叫做羚羊皮加工的工艺而制备”获得专利。多孔性被认为是一种机械性优点，可以防止膏剂从给药点滑落，每一个开口都是一个定位点。多孔硬膏剂远比无孔的品种舒适，这也是无孔品种被替代的原因所在（参见 Plasters 和 Plasters, adhesive)<sup>[5,15]</sup>。

Politzer plugs (耳用棉塞)：涂脂的棉花球，大小相当于胡瓜子，上附有一根线，插进耳道以起到防护作用。这种小球以奥地利耳科医生 Adam Politzer (1835~1920 年) 而命名<sup>[1,2]</sup>。

Pomatum (发膏剂)：用芳香成分饱和的油脂<sup>[5]</sup>。

Potio (饮剂)：参见 Draughts。

Potions (饮剂)：参见 Draughts。

Potus (饮剂)：参见 Draughts。

Poultices (泥鳅剂)：在 16 世纪的英国最初被拼写为 pultes，该名词来源于拉丁语 puls 或 pultes，意为“一种肉汁”（参见 Cataplasms)<sup>[2]</sup>。

Powder papers (包药纸)：参见 Papers, divided。

Powders (散剂，粉剂)：指经过粉碎和研磨过程制成的细微的干燥粉末状药物直接混合物。粉剂分为两类：单一的、仅包含一种物质的散剂；复方的、包含两种或两种以上混合粉末的散剂。最古老的复方散剂之一是芦荟桂皮散剂（神圣苦味药），为芦荟和桂皮的混合物，在公元前 500 年作为缓泻药而使用，是大量以芦荟为主要成分并且冠以芦荟为名的苦味散剂的原型。该散剂被列入各个药典中，最后被第四版《美国国家处方集》所承认（1926 年被正式收录）。最初散剂的设计是为了便于坚硬的植物药物，如根、皮和原本的给药；后来发现散剂也便于分发不溶性化学合成药，如甘汞、铋盐、水银和白垩等。以往著名的复方散剂有：复方甘草散剂，即复方番泻叶散，收录在第一版《伦敦药典》（1618 年）中；吐根阿片散剂，或称为 Dover 散剂，由英国医生 Thomas Dover 在 18 世纪早期发

明，命名作 Pulvis Diaphoreticus（发汗散）；白垩芳香散剂，复杂糖膏剂的简化制剂，由 Walter Raleigh 在囚禁期间设计，1721 年作为 Confectio Raleighana (Raleighana 糖膏剂) 引入伦敦药典；含铋散剂，1747 年以詹姆斯博士发热散剂 (Dr. James's Fever Powder) 为名被授予专利。《美国国家处方集》（1836 年）注明“散剂的形式便于非大剂量药物的给药，味道不是非常令人反感，没有腐蚀性，暴露于环境中不会快速潮解”。今天，那些不宜制成胶囊或片剂的药物仍然可以以散剂的形式，将其置于舌头的背面以水吞服而极为便利地给药。加有香料的散剂特别适合于吞服胶囊或片剂困难的儿童（参见 Powders, divided)<sup>[4,5,13,24]</sup>。

Powders, divided (分剂量散剂)：指干燥粉末状药物的直接混合物，以单剂量为单位分装入一小片玻璃纸中的口服给药制剂。分剂量散剂是最古老的剂型之一，已经基本被胶囊或片剂所代替。尽管如此，散剂的制备将药物粉碎成非常细的细粉，这种物理状态通常能够增加药物的治疗活性，是增强顺势疗法研制制剂、甘汞和碳酸氢钠混合物和阿片叶根散（吐根阿片散剂）功效的一个因素。分剂量散剂同时也给那些不是非常苦、令人恶心或其他让人反感的药物提供了一种方便的给药方法。最古老的分剂量散剂之一是塞得利兹粉剂，一种盐水泻剂，由 Thomas Savory 于 1815 年发明并获得专利。Savory 宣称该散剂的价值来自于德国塞得利兹泉的矿物质特性，它含有硫酸镁。该散剂由碳酸氢钠（用蓝色纸包装）及酒石酸和酒石酸钾钠（用白色纸包装）组成，它们分别溶解在水中，再混合。该配方于 1824 年出现在由费城大学药学院出版的一本专利药物处方的书中，在《美国药典》中一直以复方泡腾剂散被正式收录，后来被《美国国家处方集》第 12 版（1965 年）收录；又称 Powder papers (包药纸)<sup>[5]</sup>。

Precipitates (沉淀剂)：指通过物理或化学方法从原澄清液体中分离出颗粒而制备的药物制剂。当非结晶物的饱和溶液被冷却时，或者当一种液体加入到不能溶解于它的物质的溶液中时，通常就会产生沉淀。以前，药剂师利用沉淀过程作为一个获得极细颗粒状固体物质（沉淀碳酸钙）的便利途径，纯化固体（沉淀磷酸钙），或制备汞盐。1632 年，Beguin 第一次描述了白降汞（氯化氨基汞），为一种可溶性双氯汞铵盐，分别以 sal alembroth (氯化汞铵盐) 和 sal sapientiae (智盐) 为炼丹家所熟知。红降汞（红色氧化汞），以 hydragyrum precipitatum per se (汞自沉淀物) 或“自沉淀物”被炼丹家们所熟知；黄降汞是黄色氧化汞的别名<sup>[5,24]</sup>。

Preserves (蜜饯)：参见 Conserves。

Protective dressings (保护敷料)：参见 Dressings, protective。

Pulvis (散剂)：参见 Powders。

Quiddonies：一种以温柏树芳香味的稠厚糖浆为赋形剂的制剂（也见 Syrups)<sup>[39]</sup>。

Resina (树脂剂)：参见 Resins。

Resins (树脂剂)：一种主要由植物树脂组成的固体制

剂。按药典方法配制的树脂剂与乙醇提取物的不同之处在于,后者包含药物中所有溶于乙醇的成分;而树脂剂仅包含溶于乙醇却不溶于水的成分。这一名词可能来自希腊语 *rheos*, 意为“流动”,大概源于松树树脂的流动现象<sup>[2,5]</sup>。

*Rotula* (糖丸): 球剂或糖球剂 (参见 *Pills*)<sup>[5]</sup>。

*Rubificients* (红肿诱导剂): 一种在皮肤上产生红肿和炎症的局部应用制剂。这一名词来源于两个拉丁词汇: *ruber*, 意思是“红肿”; *facio*, 意思是“产生”<sup>[2,13]</sup>。

*Saccharures* (糖酊剂): 将饱和蔗糖与酊剂混合、干燥、研磨成粉末而制得的一种制剂<sup>[5]</sup>。

*Saccelli amylacea* (糯米纸囊剂外壳): 参见 *Wafer envelopes*。

*Sacculi* (球囊剂): 药用球囊或“药物袋”的简称<sup>[20]</sup>。

*Sal* (盐): 参见 *Salts*。

*Sal effervescens* (泡腾盐): 参见 *Salts, effervescent*。

*Sal factitium* (人工盐): 参见 *Salts, artificial*。

*Salts* (盐): 指由酸和碱结合,或者通过碱与金属作用,或者各元素直接结合形成的化合物。这一名词通常为盐类药物制剂的总称:苦盐、泻盐、*Seidlitz* 盐 (硫酸镁)、预制盐 (锡酸钠)、普雷斯顿氏盐 (氯化铵)、洛瑟尔盐或 *Seignette* 盐 (酒石酸钾和酒石酸铵)、火星盐 (硫酸亚铁)、土星盐 (乙酸铅)、钾碱 (碳酸钾)、锡盐 (氯化亚锡)、智慧盐 (二氯化汞和氯化铵)、咽喉痛盐 (熔融硝酸钾)、醋盐 (乙酸钙)、呕吐盐 (硫酸锌)。这一名词也指一些酸,如柠檬盐或酸盐 (柠檬酸)、酸盐 (乙二酸) 以及盐酸 (氢氯酸)<sup>[5,13]</sup>。

*Salts, artificial* (人工盐): 指一些比较重要的化学盐的混合物,这些盐自然存在于欧洲一些有名的矿泉中。“这些人工盐需要做适当的标记”,《雷明顿实用药剂学》中指出,“如果用它制备泡腾盐或矿泉水,那便是出售仿制品”<sup>[5]</sup>。

*Salts, effervescent* (泡腾盐): 颗粒状泡腾盐最初的制备工艺为:将干燥粉末与干燥的酒石酸、碳酸氢钠混合后,用乙醇润湿,再将软材过筛,颗粒在高温室中迅速干燥,再过筛后,装入瓶中密封,防止吸潮。后来这种工艺改良为:在平底搪瓷盘中混匀粉末,将混合物放入烘箱中加热至 100℃,或者将混合物放入深底夹套锅或包衣锅中,边旋转边用煤气火焰加热。当混合物变潮后,用木匙将其搅拌均匀,再压过镀锌铁筛网制粒,制得的颗粒再用烘箱在较低温度下缓慢干燥,即得<sup>[5]</sup>。

*Salts, smelling* (嗅盐): 一种以氨水为基质的制剂、治疗癔病性晕厥 (昏厥) 的滋补品。干燥嗅盐 (或嗅盐瓶) 由氯化铵和碳酸钾加入薰衣草组成;液体嗅盐由碳酸铵溶解在浓氨溶液和乙醇中,再加入芳香剂油脂而组成。固化嗅盐与之相似,用硬脂酸固化<sup>[5]</sup>。

*Salve pencils* (药用笔剂): 参见 *Pencils, medicated*。

*Salves* (软膏剂): 该名词可能来源于盎格鲁撒克逊语 *sealf* 或德语 *salbe*, 意为“软膏” (参见 *Ointments*)<sup>[2]</sup>。

*Scutum* (盾剂): “健胃盾剂”的缩写,是一种用在胸部或胃部的面积较大的膏药<sup>[20]</sup>。

*Semicupia* (蒸汽浴): 一种半身浴,可与 *Insessia* 互换<sup>[20]</sup>。

*Sericum oleatum* (油绸): 参见 *Silk, oiled*。

*Serums* (血清剂): 19 世纪 90 年代, *Emil von Behring* (1854~1917 年) 扩展了减毒病毒的 *Pasteur* 理论,使得血清疗法异军突起。*Behring* 认为对减弱白喉毒素免疫的动物血清,通过对疾病毒素的特殊中和作用,可以作为其他动物对抗白喉的预防或治疗性接种。1894 年, *Behring* 开始大规模生产这种新型抗毒素血清,这种血清很快作为治疗白喉的特殊疗法被认可。抗血清作用与患者血液中的毒素相结合,则表现为惰性。应用抗毒素血清成功治愈了猩红热、破伤风、丹毒、肉毒杆菌毒素以及气性坏疽病等疾病。向动物体内连续注射细菌,可以制得抗菌血清。这一免疫制品通过增强吞噬作用、消灭细菌而起效。肺炎、链球菌感染以及脊髓膜炎都使用这类血清辅助治疗。混合血清既包含抗毒素免疫体,又含有抗菌免疫体,用于治疗猩红热<sup>[3,40]</sup>。

*Shampoos* (洗发剂): 指洗发发的洗液或肥皂。该名词来源于印度斯坦语 *tshampa*, 意为“挤”或“压”,可能与东方的热水浴有关<sup>[2]</sup>。

*Silk, oiled* (油绸): 由精制丝绸制得的一种薄而柔软的保护性敷料,外面涂布一层柔韧的亚麻子油涂剂。油绸可以在最后的涂布工艺中添加滑石粉或淀粉而呈半透明或不透明状。涂油棉布或涂油亚麻布与油绸类似,不同之处在于其基本织物是光滑的棉布,较厚、较重,因而也不如油绸柔软 (参见 *Dressings, protective*)<sup>[5]</sup>。

*Sinapismus* (发疱膏剂): 参见 *Plasters, blister*。

*Sindon oleata* (涂油布料): 涂油棉布或涂油亚麻布 (参见 *Silk, oiled*)。

*Snuffs* (嗅剂): 参见 *Insufflations*。

*Soaps* (肥皂): 一类脂肪酸金属盐的化学物质。*Pliny* (公元 1 世纪) 记载了古罗马人从日耳曼民族学会了肥皂的配制方法,日耳曼人用山羊脂肪和山毛榉材的灰制成香膏剂。肥皂的拉丁语 *Sapo*, 即来自日耳曼语 *sepe*。19 世纪初,肥皂的化学作用被法国化学家 *Chevreul* (1786~1889 年) 阐明。肥皂分为两种:可溶性肥皂 (或称去污剂或清洁剂) 和不溶性肥皂。前者是由脂肪酸和碱金属 (特别是钠、钾) 组成的化合物;后者是由脂肪酸和其他金属基团组成的化合物,如油酸铅硬膏或氧化钙搽剂,即亚麻子油的钙皂。可溶性肥皂包括硬肥皂 (或称橄榄油皂) 和软皂 (或称绿肥皂)。前者由橄榄油和氢氧化钠制成,收录在第 11 版《美国国家处方集》(1960 年) 中;后者由亚麻子油、甘油和 10mol 的氢氧化钠和氢氧化钾溶液制备而成,目前仍收录在药典中<sup>[4,5]</sup>。

*Soft capsules* (软胶囊): 参见 *Capsules, soft*。

*Solutio*: 仅在第 5 版《美国国家处方集》(1926 年) 中记载的牙科用制剂,由树脂的三氯甲烷溶液组成<sup>[3]</sup>。

*Solution tablets* (溶解片剂): 参见 *Tablets, solution*。

*Solutions* (溶液剂): 指一种或多种物质溶解在溶剂中

# J

形成的液体制剂，其组成成分或制备方法与其他剂型不同，所以自成一类。从 17 世纪开始，术语 *liquor*（溶液）就表示液体溶液。到 20 世纪初之前，*liquor* 通常指非挥发性物质的水溶液。例如，《美国药典》中的柠檬酸镁溶液，拉丁名为 *Liquor Magnesii Citratis*。从《美国药典 XVI》和《美国国家处方集 XI》（1960 年）开始，*liquor* 不再使用，而在活性成分和组分前使用 *solutions*<sup>[19]</sup>。

*Solutions, irrigating*（冲洗剂）：指使用达金氏溶液处理伤口时，应用特殊装置连续使用的一种制剂<sup>[5]</sup>。

*Solutions, nasal*（鼻用溶液剂）：指缓慢滴入（而非喷入）鼻腔中的药物溶液制剂，是现代药物发展的趋势。第一个鼻用溶液剂的处方为薄荷醇和麝香草酚溶解在轻质液体石蜡中。后来等渗水溶液被设计为滴剂<sup>[3]</sup>。

*Solutions, ophthalmic*（眼用溶液剂）：眼用溶液剂起源于古代的洗眼液，最初叫做洗眼剂（*collyria*）。早期的制剂不是现在的无菌缓冲溶液。术语 *collyrium*（洗眼剂）来源于希腊文 *kollurion*，由希波格拉底命名，表示用于妇产科的脂肪栓剂。洗眼剂是先将液体制成糊状，再成型为棍状。最后，加入更多液体，稀释成洗液。这种洗液用来清洗眼睛，而且术语 *collyrium* 成为这类制剂的专有名词。*Remington* 处方是 1886 年到 20 世纪中叶的洗眼剂的标准处方，将 260mg 硼砂溶解在 30mL 樟脑中即得<sup>[2,41]</sup>。

*Sovella*（溶解片剂）：参见 *Tablets, solution*。

*Spasmodraps*（膏剂）：指用膏药浸泡或涂布的亚麻布或其他布料，1514 年被 Giovanni da Vigo（1460～1525 年），教皇 Julius II 的医师，所推广。来源于拉丁语 *spasma* 和法语 *drap*，意思分别为“愈合粉”和“布”。也称为膏药（*sparadraps*）或蜡布（*cerecloths*）（参见 *Plasters*）<sup>[15]</sup>。

*Species*（茶剂）：参见 *Teas*。

*Spirits*（酊剂）：指挥发性物质（通常为挥发油）制成的乙醇溶液。《美国国家处方集》的一些版本中规定“挥发油酊剂”包含 6.5% 的挥发油，但是后来这一规定由于偏低而废除。尽管是内服制剂，但是一些酊剂也通过吸入法或作为调味剂而药用<sup>[4,31]</sup>。

*Spiritus*（酊剂）：参见 *Spirits*。

*Sprays*（喷雾剂）：通过雾化器或喷雾器而喷散的药用液体制剂，通常外用或用于呼吸道黏膜。在美国药典中，喷雾剂叫做 *inhalatio*；《美国国家处方集》中称其为 *nebulae*。20 世纪初，喷雾剂由芳香剂溶解在轻质液体石蜡中配制而成。随着吸入的油脂对人体尤其是对儿童造成的损伤日渐明显，喷雾剂逐渐采用缓冲水溶液<sup>[1,31]</sup>。

*Starch capsules*（淀粉胶囊）：参见 *Cachets*。

*Steam*（蒸汽）：参见 *Vapors*。

*Steatina*（药布剂）：一种涂药软布（参见 *Mulls*）<sup>[5]</sup>。

*Stilus dissolubilis*（可溶性药笔剂）：可溶性笔剂（参见 *Pencils, medicated*）。含有腐蚀剂或收敛剂的笔剂<sup>[5]</sup>。

*Stilus medicatus*（药笔剂）：参见 *Pencils, medicated*。

*Stilus unguentis*（药膏笔剂）：冷却、灭菌或收敛性的软膏笔剂（参见 *Pencils, medicated*）<sup>[5]</sup>。

*Stupa*（药布）：参见 *Stypes*。

*Stypes*（药布）：指绞出热水、喷上抗刺激剂的布料<sup>[2]</sup>。

*Styptic pencils*（止血笔剂）：参见 *Pencils, medicated*。

*Succus*（汁）：参见 *Juices*。

*Succus spissatus*（浓汁）：浓缩的汁（参见 *Extracts*）。

*Sugar plums*（梅子糖）：参见 *Condita*。

*Suppositories*（栓剂）：指供插入人体的几个腔道（除口腔以外）中使用的圆锥形或卵球形药用固体制剂。栓剂早在公元前 2600 年就为人所知，并记录在希波格拉底（约公元前 400 年）的著作中。该名词来源于拉丁语 *suppositus*，意为“放置在……之下”。以前的栓剂是用手制作的，以肥皂或其他半固体脂质为主要基质。在 17 世纪和 18 世纪之前不大常用，直到 19 世纪中叶，用可可脂作为基质后，才开始普及。1766 年，Antoine Baumé 使用液化可可脂作为栓剂的模具。这一技术在美国被 B. Alfred 所推广。大约在 1852 年，Taylor 使用纸制圆锥为模具。虽然许多药剂师仍然用手来制备栓剂，且在制备过程中不需加热，然而在 1860 年左右，已经开始有人使用金属模具。1868 年金属压栓机的发明使可可脂冷压法成为可能，1879 年出现了第一个广受欢迎的压模。1870 年以后，甘油和明胶混合物开始用作栓剂的基质，开创了对优化基质的探索，这种探索一直延续至今<sup>[2, 19, 42]</sup>。

*Suppositorium*（栓剂）：参见 *Suppositories*。

*Suspensio*（混悬剂）：参见 *Suspensions*。

*Suspensions*（混悬剂）：指含有粗分散材料的非均匀体系。多种药物制剂都是作为混悬剂使用的，例如，白色洗剂、铋糊剂以及阿片和甘草的复方合剂（棕色合剂）。而且，一些药典收载的软膏也是固体分散在半固体基质中形成的混悬剂。在《美国药典》和《美国国家处方集》中，大量混悬剂归入合剂这一类别中<sup>[19]</sup>。

*Swabs*（拭子）：在《美国药典》中，指含有碘酒的安瓿，覆盖纱布或其他吸收性物质，供急救治疗使用。碘酊拭子，后来叫做碘酒安瓿，收载在 13 版《美国国家处方集》（1970 年）中。当碘酒用于急救时，打破安瓿头，纱布吸收碘酒，直接用于伤口处。一些碘酒安瓿是细毛细管，需要时将其打破，则酊剂直接接触用药部位<sup>[24]</sup>。

*Sweetmeats*（蜜饯）：参见 *Condita*。

*Syrups*（糖浆剂）：指含或者不含药或调味剂的糖（通常为蔗糖）的近饱和水溶液。糖浆剂通常分为：矫味糖浆，含有果类或芳香类物质，用于调味；药物糖浆，含有药物。《美国药典》中的单糖浆通常用于制备丸剂块和其他合剂<sup>[3,8,19]</sup>。

*Syrupus*（糖浆剂）：参见 *Syrups*。

*Tabella*（片剂）：参见 *Tablets*。

*Tablet Triturates*（模印片剂）：参见 *Triturates, tablet*。

*Tablets*（片剂）：指在模具中将药物模制或压制而成的药物制剂。片剂的形状各异，最普通的形状是盘形，重 0.06～0.60g。1608 年，Jean de Renou 使用拉丁语 *tabella* 表示一种特殊类型的药片；1878 年，Burroughs Wellcome

& Company 创造了“tablet”这一名词作为他们的压制丸剂的商标；该名词来源于法语 *tablette* 和拉丁语 *tabula*，前者的意思是“架子”，后者意即“板”。1843 年，英国药剂师 William Brockedon 为其压片装置申请了专利，该装置不需要使用液体胶黏剂，普遍应用于丸剂和锭剂的制备，制得的产品称作压制丸剂。1864 年，费城药商 Jacob Dunton 发明了一个类似的装置，1869 年将其压制丸剂投入市场；1875 年，Joseph Remington 也设计了一种相似的压片机，使得零售药商可以“自己生产处方需要的药物制品”。这些装置均由压片圆筒、下方的模具（装载药物）以及上方的模具（与锤相碰撞而压片）组成。1874 年，德国的 Rosenthal 教授发明了螺旋压片机，这种装置更为可靠；并于 1907 年由奥地利的 Carl Engler 进一步完善。另一大进展是费城的 Bennett L. Smedley 于 1879 年介绍的杠杆装置。1872 年，费城制药者 John Wyeth 的雇员——Henry Bower 研制了第一台旋转式压片机；两年以后，Joseph A. McFerran 获得了第一个全自动化压片机的专利<sup>[2, 4, 43]</sup>。

Tabletta (片剂)：参见 Tablets。

Tablets, compressed (压制片剂)：参见 Tablets。

Tablets, dispensing (调剂片)：参见 Tablets, solution。

Tablets, enteric-coated (肠溶片剂)：参见 Enteric-coated doses。

Tablets, hypodermic (皮下注射片剂)：指溶于水中、再将溶液注射的模制片。皮下注射片剂与普通模印片的区别在于其大约重 0.03g，而普通片约重 0.06g。现代的压制皮下注射片剂由药剂师临用前现配，尽管是在严格的环境下制造以防止污染，但皮下注射片剂未规定必须灭菌（参见 Triturates, tablet）<sup>[4]</sup>。

Tablets, molded (模制片)：参见 Triturates, tablet。

Tablets, poison (毒片剂)：二氯化汞的角形（而非盘形）片剂，蓝色，每片上都标有“POISON”（有毒）标志，而且明显地印有骷髅和十字骨架图。毒片剂（或称 *toxibellae*），以独特的单产品分类方式，收录在《美国药典 IX》（1916 年）中，第 10 版《美国国家处方集》（1950 年）中收录了两种规格的毒片剂；大剂量的毒片剂一直收录到 12 版（1965 年）中。将毒片剂用溶液稀释 1000 倍，所得的二氯化汞溶液可以作为防腐剂，主要用于无机体和未擦伤皮肤的消毒<sup>[4, 5, 24]</sup>。

Tablets, solution (溶解片剂)：含大量有效成分的模制或压制片剂，不是用于服药，而是为了便于分发药物，也称作调剂片。为了降低发药时错发成其他片剂的风险，调剂片通常做成角形，而不做成盘形。调剂片上通常有压痕，便于精确分割。有的也溶解在水中以供外用<sup>[4]</sup>。

Teas (茶剂)：指供作药茶或泥菴剂的干燥草药的粗粉混合物，又称 *Species*。《美国国家处方集》第 5 版（1926 年）中收录了一种用作泥菴剂的润肤药茶剂、一种缓泻药茶剂（St. Germain 茶剂）以及一种治疗呼吸道黏膜炎的肺病药茶剂（Breast 茶剂）。类似的美国国产草药茶剂一般用作家常药品。正宗的茶叶于 1379 年由 Christopher Borough

从中国传入英国。英语单词 *tea* 可能来自荷兰语 *thee*<sup>[2, 5, 24]</sup>。

Tinctura (酊剂)：参见 Tinctures。

Tinctures (酊剂)：指药物（通常为植物药）的乙醇溶液或含水乙醇溶液。该名词来源于拉丁语 *tingere*，意为“染色或浸在颜色中”。13 世纪，酊剂这种乙醇溶液在 Raymond Lull 和 Arnald of Villanova 的努力下，进入医疗实践。Paracelsus（1493~1541 年）是酊剂的坚决拥护者；由于他是一个有争议的人，所以他的拥护可能反而阻碍酊剂直到 18 世纪才编入药典中。19 世纪，在美国，葡萄酒是主要的水醇赋形剂。然而一个世纪以后，酊剂（以及酞剂）代替了葡萄酒，因为它们浓度范围更宽。此外，禁酒令也阻碍了葡萄酒的广泛使用。随着植物制剂在 20 世纪逐渐衰落，酊剂主要作为芳香剂，如陈皮酊剂，保留在药典中。顺势疗法酊剂通常是将新鲜的干燥肉质植物或植物的某一部位长时间浸泡在乙醇中而制备，每 10 份该种酊剂相当于 1 份原干燥原料<sup>[2, 5, 19]</sup>。

Tinctures, homeopathic (顺势疗法酊剂)：参见 Tinctures。

Tincture triturations, homeopathic (顺势疗法研制酊剂)：参见 Triturations。

Toothache drops (牙痛滴剂)：参见 Drops, toothache。

Toxibella (毒片剂)：参见 Tablets, poison。

Triturates, tablet (研制片)：指将湿润的片剂颗粒放入模具中，手动压片，使药物变干变硬而制备的药物粉末的盘状小型片剂。研制片的基本处方通常是乳糖与蔗糖以 5:1 的比例混合，再用挥发性液体，如乙醇润湿。研制片于 1878 年由 Robert W. Fuller 博士作为一种可口而方便的口服给药制剂引入纽约。Fuller 的最初的研制片由金属、矿物质以及植物物质的研磨制品组成，用乙醇或水将其混合成糊状，再压模制成一定的形状。1882 年，Fuller 介绍了一种带有相应木钉板的打孔硬橡胶片剂研磨模具，事实上与现在使用的相同。研制片可以很好地满足顺势疗法医生的要求，而且毫无疑问地有助于顺势疗法剂量的使用。20 世纪的药剂师也用该技术制备皮下注射片剂（用于皮下注射）。当今，研制片和皮下注射片都通过压制成形，并被称作模制片<sup>[4, 5, 43]</sup>。

Trituratio (研制制剂)：参见 Triturations。

Triturations (研制制剂)：指将药物粉末与适当的稀释剂（通常为乳糖），以一定的质量分数（通常为 10%）混合而制备的制剂，可以用于分发药物。那些有毒的物质，例如，硫酸土的宁、砷、二氯化汞和阿托品更需要精密地使用这种技术稀释，药剂师可以用研磨制剂称量多种处方药。以前，顺势疗法研制制剂通过将 1 份药物与 99 份乳糖混合研磨至少 1h 而制备；顺势疗法酊剂研制制剂是将 10mL 顺势疗法“浓酊剂”与 10g 乳糖混合，再轻轻地研磨混合物至干燥。虽然这种粉末状研制制剂在 20 世纪 20 年代中期以前已经被商业化的模印片所取代，然而详细说明稀释剂的研制制剂的通式仍然记载在《美国药典》第 14 版中



(1950年)<sup>[5]</sup>。

Triturations, homeopathic (顺势疗法研制剂): 参见 Triturations。

Triturations, tincture (酊剂研制剂): 参见 Triturations。

Troches (锭剂): 形状为小圆盘、圆柱或片剂的固体制剂, 服用时将其放入口中缓慢溶解或崩解。该名词来源于希腊文 trochos, 意为“圆”或“环”。后来在法国称作 pastils, 在英国称作 lozenges。最早的锭剂之一(公元前500年)真赭土, 或称密封土, 是一种由兰诺斯岛的泥土和山羊血组成的产品, 制备时将其卷滚并切成圆盘, 用图章压印; 中古时代以前, 有各种锭剂冲压工具应用。1856年, Edward Parrish 介绍了一种卷动和切割锭剂的装置, 由滚动板、木制滚筒和切割冲头组成。在接下来的20年中, Slocum (1879年)、Harrison (1880年)、Wallace Procter (1894年)等近十人申请了类似的专利。第4版《美国国家处方集》(1916年)收录了9种锭剂; 20世纪30年代中期以前, 锭剂被片剂所代替。第6版《美国国家处方集》(1936年)中仅有一种 Elm 锭剂。现代锭剂由药物粉末与糖、西黄蓍胶混合而成, 或者将药物掺入糖果或甘油明胶基质中<sup>[2~4]</sup>。

Trochiscus (糖锭剂): 参见 Troches。

Unguenta extensa (展膏剂): 参见 Mulls。

Unguentum (软膏剂): 参见 Ointments。

Vapor siccus (干粉吸入剂): 参见 Inhalations, dry。

Vapors (吸入剂): 指使用蒸汽或沸水, 或者使用特殊结构的装置产生的含药或不含药的蒸汽<sup>[5]</sup>。

Vesicatories (起疱剂): 指使用后在皮肤下产生血清排出物、形成水疱的局部药物制剂。也称为发疱剂 (epispastics)<sup>[13]</sup>。

Vials (药水瓶): 参见 Ampuls。

Vinaigrettes (嗅盐瓶): 参见 Salts, smelling。

Vinegars (醋剂): 指药物在醋或乙酸中的浸出液或溶液, 是最古老的药物制剂之一。从古代就知道醋是一种比水更好的溶剂和保存剂。第一版《美国药典》(1820)的第一个制剂便是 Opium 醋剂, 或称阿片醋剂。该英语单词来源于法语 vin 和 aigre, 意思分别为“酒”和“酸”<sup>[2, 8, 19]</sup>。

Vinum (酒剂): 参见 Wines。

Wafer capsules (扁囊剂): 参见 Cachets。

Wafer envelopes (糯米纸囊剂外壳): 指供服用苦味或异味药物的预制米粉外袋。糯米纸囊剂由 Johann Schmidt 发明, 称为 saccelli amylacei, 标志着干糊片在便利性方面的进步。药剂师通常给患者提供空纸囊剂外壳, 以便他们自己从包药纸中转移一定的剂量而服用<sup>[5]</sup>。

Wafers (糯米纸囊剂): 供异味药物给药的扁平米粉片。干燥后, 糯米片呈片状, 不粘连、坚硬、略易脆, 且较普通卡纸板稍厚。将一片糯米片漂在水上, 直至其完全软化, 然后把一个汤匙放在下面将其提出, 将药粉放在中间, 四周折起完全包住药粉, 就制成了糯米纸囊剂。如果

将水倒入汤匙, 隐藏的药粉便被吞服而不会察觉到任何不良气味。糯米片是通过将米粉和水的混合物倒在涂有油脂的热盘子上或将米粉放在两个磨光的热旋转圆柱间滚压而成<sup>[5]</sup>。

Washes (洗剂): 指用于清洁身体特定部位的水制剂。如灌肠剂、滴眼剂、口洗剂和鼻洗剂等。药典中收录的常用洗剂有碱性芳香溶液和消毒溶液等<sup>[31]</sup>。

Washes, eye (洗眼剂): 参见 Solutions, ophthalmic。

Washes, mouth (口腔洗剂): 指用挥发油调味的肥皂的含水乙醇溶液, 供清洗口腔用; 《美国国家处方集 V》(1926年)首次记载该制剂<sup>[31]</sup>。

Waters, aromatic (芳香水剂): 指芳香油或类似物质在蒸馏水中的饱和溶液。芳香水剂(如玫瑰水)从古代就开始使用。17世纪初期进入鼎盛时期。现代在治疗方面的应用逐渐减少, 但仍用作调味剂。北美金缕梅水一直作为须后水和收敛剂使用<sup>[19]</sup>。

Wax, dental (牙蜡): 参见 Drops, toothache。

Waxed papers (石蜡纸): 参见 Papers, waxed。

Wines (酒剂): 指药物通过溶解、浸渍或渗漉过程制备的乙醇溶液。与酊剂的唯一区别在于酒剂代替各种浓度的乙醇用作溶剂。在很多情况下由于酒剂中的乙醇成分改善了它的溶解性能, 酒剂成为最古老的液体制剂之一。《美国国家处方集》第六版(1916年)收录了15种酒剂, 但是禁酒令让修订者们明白必须将红酒、白酒、连同其他的含药酒类一起, 从一览表删除<sup>[3]</sup>。

## 参考文献

1. Arny, H. V. Principles of Pharmacy; W. B. Saunders Company; Philadelphia, 1918.
2. Wain, H. The Story Behind the Word; Charles C. Thomas; Springfield IL, 1958.
3. Arny, H. V. Principles of Pharmacy; With the Collaboration of Robert P. Fischelis W. B. Saunders Company; Philadelphia, 1937.
4. American Pharmacy; An Introduction to Pharmaceutical Technics and Dosage Forms; Sprowls, J. B., Jr., Lyman, R. A., Eds.; J. B. Lippincott Company; Philadelphia, 1966.
5. Cook, E. F.; LaWall, C. H. Remington's Practice of Pharmacy; J. B. Lippincott Company; Philadelphia, 1926.
6. Bender, G. A. Great Moments in Pharmacy: The Stories and Paintings in the Series A History of Pharmacy in Pictures by Parke, Davis & Company; Northwood Institute Press; Detroit, 1966.
7. Kremers Files for the History of Pharmacy [A Topical Reference Collection]; School of Pharmacy, University of Wisconsin-Madison.
8. Wood, H. C.; Remington, J.; Sadtler, S. The Dispensa-



- tory of the United States of America; J. B. Lippincott Company; Philadelphia, 1886.
9. Urdang, G. The Invention of Gelatin Capsules. *Pharm. Arch.* 1943, 14 (4), 58—59.
  10. Alpers, W. C. Gelatine Capsules; 1. History of the Capsule; 2. Filling the Capsule with Powders or Pill Mass. *Proc. Am. Pharm. Assoc.* 1896, 44, 175—185.
  11. Stadler, L. B. Innovations in Dosage Forms; The Gelatin Capsule. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)* 1959, 20 (12), 723—724.
  12. DuMez, A. G. A Contribution to the History of the Development of the Enteric Capsule. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1921, 10 (5), 372—376.
  13. Wood, G. B.; Bache, F. The Dispensary of the United States of America; Grigg & Elliott; Philadelphia, 1836.
  14. Wood, H. C.; Osol, A. The Dispensary of the United States of America; J. B. Lippincott Company; Philadelphia, 1943.
  15. Griffenhagen, G. The Lost Art of Plaster Spreading. *Am. Prof. Pharmacist* 1957, 23 (2), 139—143.
  16. Kremers, E.; Urdang, G. History of Pharmacy: A Guide and a Survey; J. B. Lippincott; Philadelphia, 1940.
  17. Thompson, H. O.; Lee, C. O. History, Literature, and Theory of Enteric Coatings. *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* 1945, 34 (5), 135—138.
  18. Sonneck, G.; Griffenhagen, G. A History of Sugar Coated Pills and Tablets. I. Invention and Acceptance. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)* 1957, 18 (8), 486—488, II. Methods and Equipment. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)*, 1957, 18 (9), (1957) 553—555.
  19. American Pharmacy: Fundamental Principles and Practices; Lyman, R. A., Ed.; J. B. Lippincott Company; Philadelphia, 1945.
  20. Medical Lexicon: A Dictionary of Medical Science; Dunglison, R., Ed.; Enlarged and Thoroughly Revised by Robley Dunglison Henry C. Lea; Philadelphia, 1874.
  21. Harry, R. G. Modern Cosmeticology: The Principles and Products of Modern Cosmetics; Revised by J. B. Wilkinson in Cooperation with R. Clark, E. Green, and T. P. McLaughlin Chemical Publishing Company, Inc.; New York, 1962; I.
  22. Lémery, N. *Pharmacopée Universelle*; P. Gossey; Paris, 1729.
  23. Agnew, E. Medical Dragées and Granules. *Am. J. Pharm.* 1870, 42 (3), 270—272.
  24. Remington's Practice of Pharmacy; Martin, E. W., Cook, E. F., Leuallen, E. E., Osol, A., Tice, L. F., Van Meter, C. T., Eds.; Mack Publishing Company; Easton, PA, 1961.
  25. Lloyd, J. U. Elixirs and Flavoring Extracts; Their History, Formulae, and Methods of Preparation; William Wood & Company; New York, 1892.
  26. Higby, G. J. One Hundred Years of the National Formulary; American Institute of the History of Pharmacy; Madison, WI, 1989.
  27. Taber, C. W. Taber's Cyclopedic Medical Dictionary; F. A. Davis Company; Philadelphia, 1961.
  28. Brockbank, W. Ancient Therapeutic Arts; The Fitzpatrick Lectures Delivered in 1950 and 1951 at the Royal College of Physicians; William Heinemann Medical Books, Ltd. London, 1954.
  29. Remington, J. P. The Practice of Pharmacy; J. B. Lippincott Company; Philadelphia, 1905.
  30. Davis, A. B. The Development of Anesthesia. *Am. Sci.* 1982, 70 (5), 522—528.
  31. Cook, E. F.; Martin, E. W. Remington's Practice of Pharmacy; Mack Publishing Company; Easton, PA, 1951.
  32. Griffenhagen, G. B. The History of Parenteral Medication. *Bull. Parenter. Drug Assoc.* 1962, 16 (2), 12—19.
  33. Groves, M. J. Parenteral Products; The Preparation and Quality Control of Products for Injection; William Heinemann Medical Books, Ltd. London, 1962.
  34. Toilet Milks. *Chemist Druggist* 1937, 127 (2998), 89.
  35. Griffenhagen, G. Tools of the Apothecary; 4. Suppository Molds. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)* 1956, 17 (6), 402—403.
  36. Griffenhagen, G. Tools of the Apothecary; 5. Pill Tiles and Spatulas. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)* 1956, 17 (7), 464—465.

### 进一步阅读

- Adrian, L. A. *Étude historique sur les Extraits Pharmaceutiques cont. la Description des div. Procédés et Appareils...*; Paris, 1889.
- An Account of the Rise and Attempts of a Way to Convey Liquors Immediately into the Mass of Blood. *Philos. Transac.* 1665, 1 (December 4).
- Ansel, H. C. Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms; Lea & Febiger; Philadelphia, 1981.
- Barach, A. L. Symposium -Inhalation Therapy: Historical Background. *Anesthesiology* 1962, 23 (4).
- Bartholow, R. Manual of Hypodermic Medication; Lippincott; Philadelphia, 1869.
- Boberg, E. J. Gelatin Capsules; University of Wisconsin, 1912.
- Boston Society for Medical Improvement. Report of a Com-

J

- mittee... on the Alleged Dangers Which Accompany the Inhalation of the Vapor of Sulphuric Ether; David Clapp: Boston, 1861.
- Bringinghurst, F. On Pill Machines. Proc. Am. Pharm. Assoc. 1867, 15.
- Brockbank, W. The Ancient Art of Enema Administration. Ancient Therapeutic Arts; The Fitzpatrick Lectures Delivered in 1950 and 1951 at the Royal College of Physicians; William Heinemann Medical Books, Ltd. London, 1954.
- Brockbank, W.; Corbett, O. R. De Graaf's 'Tractatus De Clysteribus.' J. Hist. Med. 1954, 9 (2).
- Brockbank, W. The Less Ancient Art of Intravenous Injection of Drugs. In Ancient Therapeutic Arts; The Fitzpatrick Lectures Delivered in 1950 and 1951 at the Royal College of Physicians; William Heinemann Medical Books, Ltd.; London, 1954.
- Brockbank, W. Ancient Therapeutic Arts; The Fitzpatrick Lectures Delivered in 1950 and 1951 at the Royal College of Physicians; William Heinemann Medical Books, Ltd.; London, 1954.
- Brown, H. M. The Beginnings of Intravenous Medication. Ann. Med. Hist. 1917, 1 (2).
- Buess, H. Die Historischen Grundlagen der Intravenösen Injektion. Ein Beitrag zur Medizingeschichte der 17. Jahrhunderts; H. R. Sauerländer & Co. Aarau Switzerland, 1946.
- Burrin, P. L. Innovations in Dosage Forms; Some Unique Dosage Forms. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.) 1959, 20 (12).
- Caujolle, F. Vegetable Essences in French Pharmacopoeia. Indian Pharm. 1954, 10 (3).
- Collard, E. Il Y a Pommade Et Pommade. Rev. d'Hist. Pharm. 1962, 50 (172).
- Crellin, J. K.; Scott, J. R. Pharmaceutical History and Its Sources in the Wellcome Collections; III. Fluid Medicines, Prescription Reform and Posology 1700 — 1900. Med. Hist. 1970, 14 (2).
- Cyr, G. N. Innovations in Dosage Forms; Innovations in Percolation. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.) 1959, 20 (12).
- Diepgen, P. Das Analzäpfchen in der Geschichte der Therapie; Stuttgart, 1953.
- Dobler, F. Die Tinctura Bei Theophrastus Paracelsus. Experimentelle Überprüfung Seiner Haupttinkturen. Band 13. Die Vorträge der Hauptversammlung der Internationalen Gesellschaft für Geschichte der Pharmazie, 1958.
- Dragstedt, C. A. Intravenous Injections. Am. Prof. Pharm. 1948, 14 (2).
- Dutton, W. F. Intravenous Therapy; F. A. Davis Co.; Philadelphia, 1924.
- Eisenberg, L. History of Inhalation Therapy Equipment. Int. Anesthes. Clin. 1966, 4 (3).
- Ellis, E. T. A New Method of Making Suppositories. Am. J. Pharm. 1879, 51 (4).
- England, J. W. An Historical Note on the Official Rosin Cerates. J. Am. Pharm. Assoc. 1933, 22 (11).
- Evans, A. J.; Train, D. A. A Bibliography of the Tableting of Medicinal Substances; The Pharmaceutical Press; London, 1963.
- Evolution of the Hypodermic Syringe and Other Instruments for Parenteral Therapy. Chem. Drug 1953, 159 (3824).
- Fairthorne, R. F. On the Preparation of Suppositories. Am. J. Pharm. 1871, 43 (10).
- Feinstein, K. Thoretische und praktische Untersuchungen ueber das Perkulationsverfahren nebst einem Ueberblick uber dessen Entwicklung; Zurich, 1936.
- First Rotary Tablet Press Traced to Wyeth, 1872. Pulse of Pharmacy [Wyeth] 1959, 13 (1).
- Foote, P. Tablets; Bulletin of the University of Wisconsin, Serial No. 1566, Madison, 1928.
- Friedenwald, J.; Morrison, S. The History of the Enema With Some Notes on Related Procedures; Part I. Bull. Hist. Med. 1940, 8 (1), 68—114, Part II, ibid., 8 (2), 1940.
- Furst, P. T.; Coe, M. D. Ritual Enemas. Nat. Hist. 1977, 86 (3).
- Garrison, F. H. An Introduction to the History of Medicine; W. B. Saunders Company; Philadelphia, 1929.
- Goodman, H. The Hypodermic Syringe; The Early History With Notes on the Forgotten Anatomical Instrument. Med. Times (N. Y.) 1956, 84 (6).
- Griffenhagen, G. Tools of the Apothecary; 6. Pill Machines. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.) 1956, 17 (8).
- Griffenhagen, G. A History and Evolution of the Suppository Mold. Am. J. Pharm. 1953, 125 (3).
- Griffenhagen, G. Tools of the Apothecary; 10. Lozenges, Tablets, and Capsules. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.) 1956, 17 (12).
- Guitard, E. -H. L'emplâtre. Rev. d'Hist. Pharm. 1960, 48 (167).
- Halsband, R. New Light on Lady Mary Wortley Montagu's Contribution to Inoculation. J. Hist. Med. 1953, 8 (4).
- Hamarnah, S. At the Smithsonian-Exhibits on Pharmaceutical Dosage Forms. J. Am. Pharm. Assoc. 1962, NS2 (8).
- Hamarnah, S. Early Arabic Pharmaceutical Instruments. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.) 1960, 21 (2).
- Harrop, J. Monograph on Fluid Extracts. Solid Extracts and Oleoresins; Columbus OH, 1895.

- Hehre, F. W. Early Events in the Development of Inhalation Therapy. *Conn. Med. J.* 1958, 22 (11).
- Heizer, R. F. The Use of the Enema Among the Aboriginal American Indians. *Ciba Symp* 1944, 5 (11).
- Helfand, W. H.; Cowen, D. L. Evolution of Pharmaceutical Oral Dosage Forms. *Pharm. Hist.* 1983, 25 (1).
- Hoff, E. C.; Hoff, P. M. The Life and Times of Richard Lower, Physiologist and Physician, 1631—1691. *Bull. Inst. Hist. Med.* 1936, 4 (7).
- Holland, M. O. Collyria. *Am. Prof. Pharmacist* 1938, 4 (6).
- Howard, Jones N. A Critical Study of the Origins and Early Development of Hypodermic Medication. *J. Hist. Med.* 1947, 2 (2).
- Jonas, A. S. The History of Plaster of Paris Bandages. *Surg. Gynec. Obstet.* 1956, 102 (2).
- Kane, H. H. The Hypodermic Injection of Morphia, Its History, Advantages and Dangers; New York, 1880.
- Kebler, L. F. The Tablet Industry—Its Evolution and Present Status; the Composition of Tablets and Methods of Analysis. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1914, 3 (6).
- Kebler, L. F.; *ibid.* 1914, 3 (7).
- Kebler, L. F.; *ibid.* 1914, 3 (8).
- Kilmer, F. B. Manufacture of Medicinal Plasters. *Am. J. Pharm.* 1910, 82 (9).
- Kirkby, W. The Story of the Pill from the Days of the Ebers Papyrus to Recent Times. *Chem. Drug.* 1939, 130 (Special Issue).
- Kratzenstein, C. G. Abhandlung von dem Nutzen der Electricität in der Arznuwissenschaft; (facsimile, c. 1978); Halle, 1744—1745.
- Krüger, M. Zur Geschichte der Elixiere, Essenzen und Tinkturen; Bd. 10, Veröffentlichungen aus dem Pharmaziegeschichtlichen Seminar der Technischen Hochschule; Braunschweig, 1968.
- Krüger, M. Zur Geschichte der Elixiere, Essenzen, und Tinkturen; Bd. 10, Veröffentlichungen aus dem Pharmaziegeschichtlichen Seminar...; Braunschweig, 1968.
- Lee, C. O. Emulsions. University of Wisconsin: 1930.
- Leigh, J. M. The Evolution of Oxygen Therapy Apparatus. *Anaesthesia* 1974, 29 (4).
- Lémery, N. *Pharmacopée Universelle*; P. Gossey: Paris, 1729.
- Lieberman, W. The History of the Enema. *Ciba Symp* 1944, 5 (11).
- Lieberman, W. Notes and Literary References to the Clyster. *ibid.* 1944, 5 (11).
- Lieberman, W. A Chronology of the Enema. *ibid.* 1944, 5 (11), 1712.
- Lillico, J. The Use of Enemata by Primitive Peoples. *Ann. Med. Hist. (Third Series)* 1941, 3 (1).
- Lloyd, J. U. Elixirs, Their History, Formulae and Methods of Preparations, Including Practical Processes for Making the Popular Elixirs of the Present Day and Those Which Have Been Official in the Old Pharmacopoeias, with a Resume of Unofficial Elixirs from the Days of Paracelsus; Cincinnati, 1883.
- Lloyd, J. U. The Chapman Suppository Mold. *Proc. Am. Pharm. Assoc.* 1902, 50.
- Mattison, R. V. On Suppository Molds. *Proc. Am. Pharm. Assoc.* 1875, 23.
- Manufacturing Industries of the Drug Trade; Planten's American Medical Capsulery and Laboratory, 1836—1896. *Pharm. Era* 1896, 16 (27).
- Mendelsohn, S. A Short History of Elixirs. *Manuf. Chem.* 1952, 23 (12).
- Meredith, D. T. Innovations in Dosage Forms: Friable Pills and Escaps. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)* 1959, 20 (12).
- Moeller, H. W. Innovations in Dosage Forms; The Story of Lozenges. *J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.)* 1959, 20 (12).
- Mohr, F.; Redwood, T.; Procter, W., Jr. *Practical Pharmacy: The Arrangements, Apparatus and Manipulations of the Pharmaceutical Shop and Laboratory*; Lea and Blanchard; Philadelphia, 1849.
- Morton, W. J. The Invention of Anaesthetic Inhalation; Appleton; New York, 1880.
- Nielsen, H. Ancient Ophthalmological Agents. A Pharmacohistorical Study of the Collyria and Seals for Collyria Used During Roman Antiquity, as well as of the Most Frequent Components of the Collyria. In *Acta Historica Scientiarum Naturalium et Medicinalium*; Odense University Press; Odense Denmark, 1974; 31.
- On a New Suppository Mold. *Am. J. Pharm.* 1867, 49 (2).
- Paris, J. A. *Pharmacologia; or the History of Medicinal Substances*; F. & R. Lockwood; New York, 1822.
- Parrish, E. Introduction to Practical Pharmacy; Blanchard and Lea; Philadelphia, 1856.
- Parrish, E.; Bakes, W. C. Fancy and Fashion in Pharmacy: Suppositories. *Am. J. Pharm.* 1861, 28 (1).
- Penn, H. P. The Geoffrey Kaye Museum Collection of Portable Ether Inhalers. *Anaesth. Intensive Care* 1975, 3 (4).
- Petit, P. Vers Un Renouveau Des Préparations Magistrales Grâce à La Formation Continue. *Le Pharmacien De France* No. 12 (June, 1974), P. 569, *Through. Rev. d'Hist. Pharm.* 1975, 63 (227).

J

- Randone, M.; Ponte, P. L. Un Metodo Di Cura Del '700; Le Pillole Di Mercurio Di Agostino Belloste. Minerva Med 1967, 58 (77, Suppl.).
- Remington, J. P. On An Improved Pill Press. Am. J. Pharm. 1876, 48 (3).
- Remington, J. P. The Practice of Pharmacy: A Treatise on the Modes of Making and Dispensing Official, Unofficial, and Extemporaneous Preparations, with Descriptions of Their Properties, Uses, and Doses. Intended as as Hand-book for Pharmacists and Physicians and a Text-book for Students; et seq J. B. Lippincott Company: Philadelphia, 1887.
- Richtmann, W. O. Bibliography of Aromatic Waters; Chronologic, 1809 to 1900; Milwaukee, 1902.
- Rodman, R. W. The Gilded Pill. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm. Ed.) 1943, 4 (7).
- Runne, H. Die Entwicklung Der Praktischen Pharmazie in Den Letzten Vierhundert Jahren. Arch. Pharm. 1931, 269.
- Rusek, V. Vyvoj Injekcni Formy Leciv. I. Ceskoslovenská Farmacie [Prague] 1960, 9 (10), II. [on technology] 12 (1), (1963). (In Czech, with English and German abstracts.)
- Scheel, P.; Dieffenbach, J. F. Die Transfusion des Blutes und die Einspritzung der Arzneyen in die Adern. Historisch und in Rucksicht auf die practische Heilkunde bearbeitet; (Reprinted 1972) F. Brummer; Copenhagen, Berlin, 1802/1803—1828.
- Seel, E. Ueber Arzneitabletten. Pharm. Zenthalle 1906, 47 (43).
- Siedler, P. sterile Ampuls. Die chemischen Arzneimittel der letzten 113 Jahre...; Bornträger; Berlin, 1914.
- Siedler, P. Gelatine Capsules. Die chemischen Arzneimittel der letzten 113 Jahre...; Berlin, 1914.
- Simpson, J. A.; Weiner, E. S. C. The Oxford English Dictionary; Clarendon Press; Oxford; Oxford University Press; New York, 1989.
- Sullivan, W. N. The Coupling of Science and Technology in the Early Development of the World War II Aerosol Bomb. Mil. Med. 1971, 136 (2).
- Taylor, A. B. Suppositories. Am. J. Pharm. 1852, 24 (3).
- The Means of Fumigating Infected Chambers, Etc. The Family and Ship Medicine Chest Companion; Being a Compendium of Domestic Medicine...; Philadelphia, 1851.
- Thomas, K. B. The Early Use of Chloroform; with Some Notes on Certain Apparatus Designed for its Delivery. Anaesthesia 1971, 26 (3).
- Thomas, K. B. An Ether Vaporiser of 1847. Anaesthesia 1968, 23 (4).
- Thompson, C. J. S. The Pomander, a Link in the History of Preventive Medicine. d'Hist. Med., 2e Congres. International (also appeared as a separate, Evreux, 1922).
- Tui, C. Practical Aspects of Pyrogen Problems. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm., Ed.) 1944, 5 (2).
- Urdang, G. Compressed Tablets [Historically Considered]. What's New [Abbott] 1943, (76).
- Van Itallie, P. H. Innovations in Dosage Forms; Pioneers of Tablet-Making. J. Am. Pharm. Assoc. (Pract. Pharm., Ed.) 1959, 20 (12).
- Van, I.; tallie, H. History of Syringes and Injection Therapy. S. D. J. Med. Pharm. 1965, 18 (1).
- Weiser, H. B. Gels I; Gelatinous Precipitates and Jellies of Inorganic Substances and Gels II; Organic Jellies. In A Textbook of Colloidal Chemistry; John Wiley & Sons, Inc.; New York, 1949.
- Wood, J. R. Tablet Manufacture, Its History, Pharmacy and Practice; Lippincott; Philadelphia, 1906.
- Wright, S. P. On Suppositories. Am. J. Pharm. 1870, 42 (3).
- Zekert, O. F. Zur Geschichte Der Extrakte. Pharm. Monatsh. 1923, 4 (3).

(陈芳译)

## 剂型设计的理化途径

Michael B. Maurin

DuPont Pharmaceuticals Company, Wilmington, Delaware, U. S. A.

Anwar A. Hussain

Lewis W. Dittert

University of Kentucky, Lexington, Kentucky, U. S. A.

### 引言

在过去的几年中,新的化合物实体所占新药的比例已经持续下降,反映了上市一个新化学药物实体要花费巨额费用。随着人们对药物的代谢和毒理因素的了解越来越多,诸如患者年龄对药物分布的影响,遗传因素导致的药物代谢显著性个体差异,药物的短期与长期暴露的毒性,以及潜在的致畸作用、致突变作用和胚胎毒性作用,政府部门对新化学药物实体的审查越来越严格。仔细审查的目的是为了尽量降低新药的毒性反应,并确保新药的有效和安全。这个管理过程也使新药在上市前要进行耗费更多的财力和时间的试验。

对新药安全性的重视加重了新药研发者的负担,而不断增加的财政压力促使要求缩短新药研发的时间。通过将研究方向转向了利用更为有效的输送手段,将已知药理活性的物质输送到适当的生理部位,这种对已批准药物的研究提高了患者的安全和药物的疗效。这种发展趋势促使药

剂研究人员去寻求最适当的方法,以最适于药理学的方式输送新的和已知的化合物。这种方法可以通过提高生物利用度、降低毒副作用以及提高稳定性来优化设计。本章的目的就是介绍这种能够提高药物的生物利用度和(或)最小化各类药物的毒副作用的途径。

合理设计药物的剂型,要求对所设计药物的理化性质和生物药剂学性质有全面的了解。例如,成功设计一个有效的口服剂型需要了解药物的生理处置途径。图1<sup>[1]</sup>列举了一些影响药物处置的生理因素。对于快速释放剂型的口服给药(最常用的传输途径),要求该剂型必须能崩解,药物能够溶解在胃肠液中,穿过胃肠道的黏膜,进入肠系膜的血液系统,并且通过肝脏到达体循环和作用位点。药物在进入循环系统前可能被胃肠液代谢,或者被肠壁的酶代谢,或者被肝脏代谢(图2)<sup>[2]</sup>。上述过程的总体结果就是由于首过代谢(灭活作用)导致生物利用不完全和(或)代谢形成药理活性物质。

药物的理化性质和生物药剂学性质对其生物利用度有重要影响,因而也影响了其疗效和毒性。因此,掌握了这些参数也就等于选择和开发了药物的最优剂型。

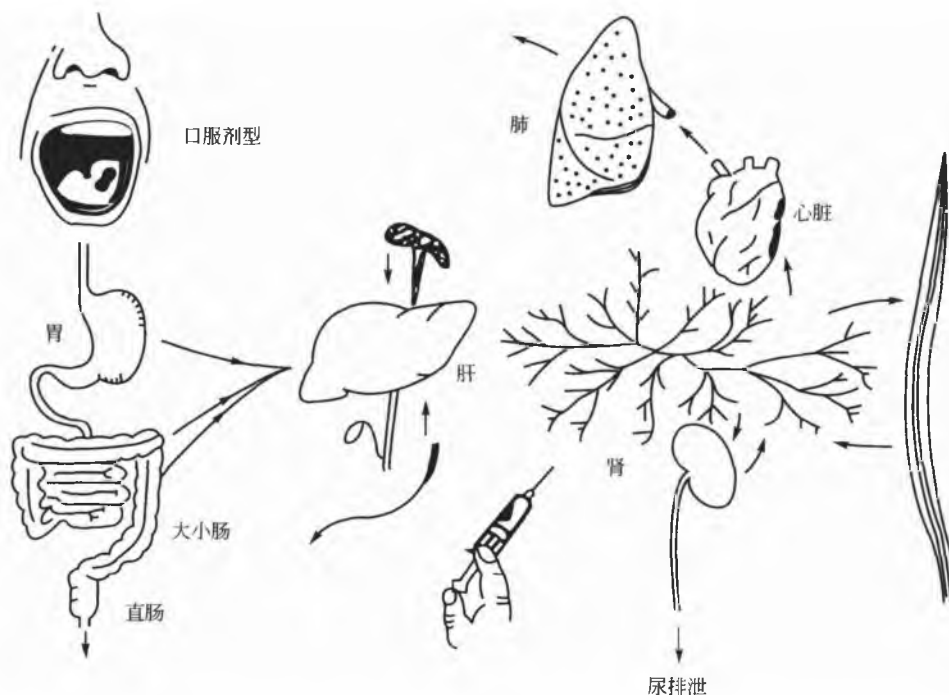


图1 生理因素对生物利用度的影响<sup>[1]</sup>

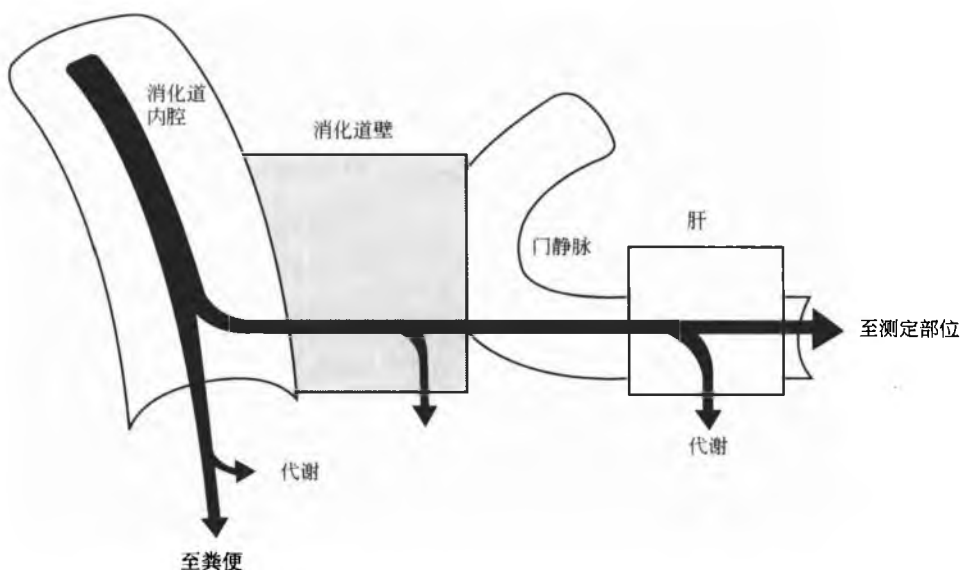


图2 一个固体药物在胃肠道吸收过程中连续转移所遇到的屏障和损失部位。溶出是第一步，是穿过消化道壁的前提。药物不完全溶出或在消化腔内被代谢或被消化道壁的酶代谢是吸收差的原因。

药物经过肝脏时的消除进一步减少了吸收<sup>[2]</sup>

药物的这些性质包括如下几项：

- pH 溶解特性和溶出速率；
- 脂质屏障与水性体液间的分配系数；
- 在体液中的稳定性和（或）降解速率；
- 对代谢灭活的敏感度；
- 通过生物膜的转运机制。

药物在 pH 2~8 的范围内的水溶性直接影响口服剂型和注射剂型的处方。在酸性介质中难溶的药物（如小于 0.1mg/mL）由于在胃肠液中对吸收过程的依赖性，可能会表现出较低的以及不稳定的口服生物利用度。静脉注射要求药物以溶解的形式给药。虽然通过调节 pH，加入潜溶剂或加入络合剂形成络合物，以及形成乳剂都能起到增溶作用，但每个手段都有一定的局限性。快速静脉注射增溶药物，可能会导致药物在难溶性环境中稀释太快，在血管内形成细小颗粒，因而会造成吸收不完全和反应延迟。

药物的水溶性差不总是缺陷，事实上难溶性药物口服或注射给药后可能会产生所需的缓释特性。口服药物如果既有一定的难溶性又能通过胃肠道吸收，就可以达到缓释效果。肌内注射在生理环境下难溶的药物的混悬液，或注射能在水性介质中形成沉淀，或在油剂中形成储库的药物而实现长效。

药物分子的油-水分配系数会影响通过被动扩散转运的药物的吸收。一般来说，考查在 pH 1~2 范围内辛醇/pH 7.4 缓冲液的分配系数，对通过脂质膜吸收的药物是足够的。然而，由于自然吸收过程较为复杂，药物分子的油-水分配系数与其被吸收的能力之间缺乏一个严格的关系。许多因素都能影响跨膜吸收，这些因素包括药物的解离性质和（或）极性和（或）膜以及载体介导吸收或排出系统的容量和部位。

用于口服给药并在低 pH 环境中快速降解的化合物，需要对药物加以保护以防止胃中酸性环境的破坏。通常将药物制成酸不溶性化学物质或制成耐酸膜包衣的剂型对药物实行保护。这种不溶性化学物质经过胃必须保持不溶并不被胃液降解，而且必须直到使其更为稳定的高 pH 的肠道环境下才溶解。耐酸包衣膜必须保持完整从而有效地保护其内容物，直到药物到达所需的 pH 环境中包衣膜才开始溶解，并且在肠道中释放内容物，因为在肠道中药物可能较为稳定。

药物口服后在胃肠道内、胃肠道壁或肝脏会发生代谢灭活。药物代谢的位置以及药物代谢过程对饱和的敏感性可能会影响口服生物利用度。有时可以通过改变这些影响因素来优化药物的口服生物利用度。例如，可以采用 pH 依赖的包衣材料，能够依赖于胃肠道局部的 pH 环境而释放药物，从而避免在胃肠道内其他部位的代谢。药物从结肠末端和直肠吸收可以减少门脉循环和首过效应的灭活（通常发生在肝脏）影响，这就为提高口服给药生物利用度提供了机会。通过在局部快速释放药物，或者药物与酶竞争性抑制剂的联合给药，可以饱和代谢酶系统。

一旦确定药物的理化性质和生物药剂学性质，并且确定期望的血浆药物浓度，那么药剂学家就能利用处方途径、前药途径、给药装置途径，或者改用其他给药途径来选择和开发药物的有效剂型。

## 处方途径

利用处方工艺可以提高药物的生物利用度和（或）减少药物的毒副作用。需要考虑的因素包括那些影响药物的溶解度和溶出速率、化学和酶稳定性以及吸收能力的因素。

药物的一些参数,包括粒径大小、晶癖和成盐形式,都能影响药物的溶解度和溶出速率。当采用混悬剂或固体剂型给药以及材料在胃肠道中分散较好时,粒径大小对相对不溶的化合物溶出速率的影响非常明显。然而,当材料最终压制成型时要特别注意,因为过大的压力会导致颗粒积聚成块,从而在实际上增大了有效粒径。

同质多晶现象是指同一种化学物质形成不止一种特定晶型的能力。一些作者<sup>[3~5]</sup>对多晶型在药剂学中的应用进行了评论。当溶出在药物的吸收过程中成为限速步骤时,多晶型引起的药物溶出速率和溶解度的差异可能会对其生物利用度产生显著的影响。

Tawashii<sup>[6]</sup>研究了两种晶型阿司匹林的胃肠道吸收情况:稳定型(晶型I)和亚稳定型(晶型II)。他发现亚稳定型产生的血清总水杨酸盐浓度要比稳定型高出70%。

药物盐形式的选择直接影响其理化性质和生物药剂学性质。已有人综述了盐选择对药物的影响<sup>[7~9]</sup>。Nelson<sup>[10]</sup>考查了茶碱盐的溶出情况,并就其对口服给药的影响进行了讨论。茶碱盐的溶出速率不依赖于介质的pH而取决于扩散层的pH。胆碱盐和异丙醇胺盐的溶出速度比乙二胺盐的溶出速度快3~4倍,并能产生更高和更持久的血药浓度。

对于高度不溶的胺基碱类,如麦角胺和某些抗疟药经过胃排空进入小肠,pH升高时这些药物可能会产生沉淀。作者的经验表明,花费大力气尝试去寻找该类药物更易溶解的新盐类可能会徒劳无功,尤其是新盐的溶解能力仅比现有的盐类高出两三倍。因此,为了优化药物的生物利用度,在研发过程中应较早地选择药物最合适的盐类型。

化学因素和酶因素都能影响药物在消化道内的稳定性。通过包衣技术可以防止药物的化学降解,而加入酶抑制剂可以防止酶对药物的灭活。

肠溶包衣能够保护药物转运通过酸性胃液。当进入十二指肠的较高pH环境时,包衣溶解,药物被吸收利用。当药物能产生胃肠道刺激性时,包衣还可以保护消化道黏膜免受刺激。这种方法已用于很多种药物,包括氯化钾、氯化铵、阿司匹林、己烯雌酚、红霉素和二丙戊酸。Nishimura等<sup>[11]</sup>利用肠溶包衣技术提高左旋多巴的生物利用度。左旋多巴一般在小肠上端部位吸收,但在小肠黏膜上会被左旋多巴脱羧酶迅速降解。该作者开发了一种具有泡腾核芯的肠溶包衣剂型。该剂型通过胃时能保持完好,到达小肠后溶解,同时由于所含碳酸氢钠的泡腾作用迅速崩解释放药物(图3)。左旋多巴在十二指肠快速释放,产生的浓度足以饱和吸收部位酶的活性。

肠溶包衣剂型的局限包括:腐蚀性的药物可能会对十二指肠产生刺激;由于输送到小肠的制剂需要崩解和溶出,相对于已崩解且部分溶出的药物,就会因为吸收不规则而增加个体间差异。

酶抑制剂会与活性药物竞争酶,因而能减少药物的降解而将药物更为有效地输送到体循环。卡比多巴-左旋多巴

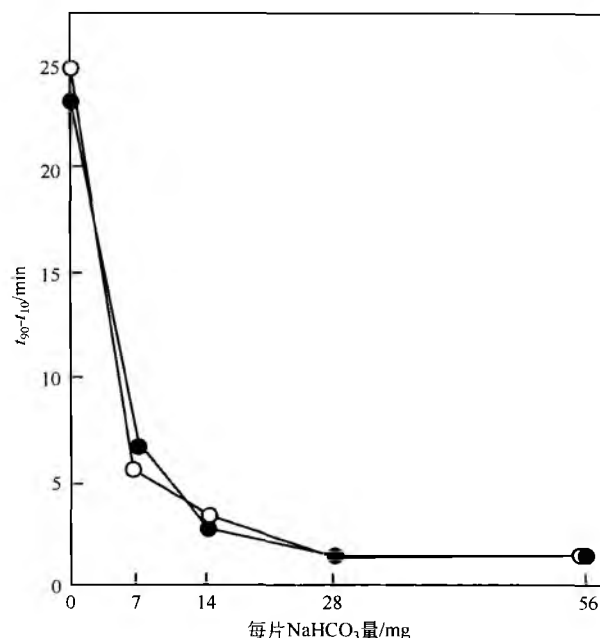


图3 左旋多巴的泡腾肠溶包衣片的溶出参数 $t_{90}-t_{10}$ 与其处方中碳酸氢钠量的关系。振摇的次数固定为5次/min, pH为7.5。●未包衣片;○肠溶片<sup>[11]</sup>

联合给药就是一个例子。卡比多巴与左旋多巴竞争脱羧酶,从而降低了左旋多巴的降解,改善其较低的生物利用度。

另外,消化道中的酶也可以用于控制活性药物在消化道中的释放。例如,柳氮磺胺是用于治疗溃疡性大肠炎的药物,它通过氮键连接磺胺嘧啶和5-氨基水杨酸。柳氮磺胺经过胃肠道时能保持完整,直到进入大肠,细菌产生的偶氮还原酶破坏氮键,释放出磺胺嘧啶和5-氨基水杨酸,从而局部作用于病灶。

通过改变可供吸收的药物可以控制其血药浓度时间曲线。就合成避孕药体激素和茶碱的一些剂型而言,需要一种途径降低药物的释放速率,从而减少出现不期望的血药浓度峰。将其制成缓释剂型就可以达到这种效果。设计药物缓释剂型的处方必须考虑以下因素:有效的血中药物浓度、化合物的吸收速率与消除速率以及吸收部位。确定这些参数后,计算所需的药物制剂释放速率就变得相对简单,利用处方工艺就可以比较容易地制备出具有期望释放速率的剂型。图4给出了一种甾体药物的缓释剂型和普通剂型的预期血药浓度。

考虑一个缓释剂型,通常要评价药物的吸收机制。通过胃肠道被动吸收的药物是缓释制剂的理想候选物。一些药物,如核黄素、叶酸、氨苄青霉素、氨基-β-内酰胺类及核苷类似物,由于它们在特定部位吸收和(或)具有主动转运过程而具有吸收窗,将这些药物制成口服剂型、缓释剂型可能会吸收不完全。

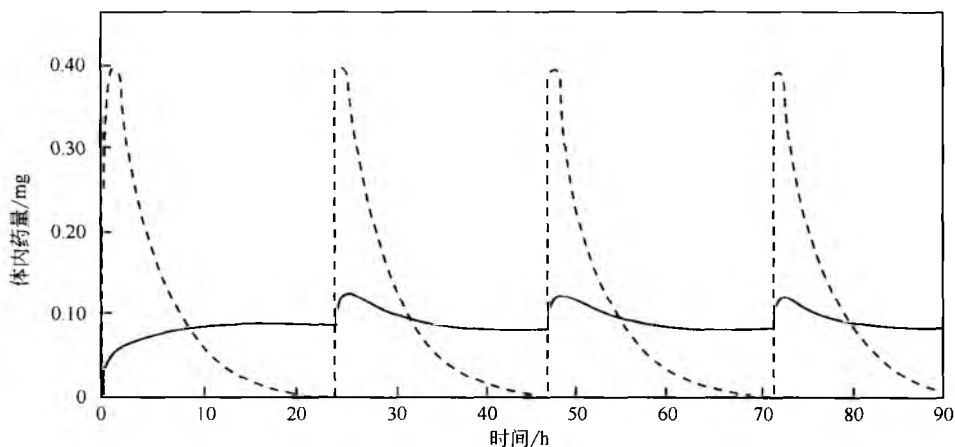


图4 快诺酮速释片(---)和缓释片(—)(剂量为0.5mg/片,消除半衰期为3h)的血药浓度-时间曲线的计算机模拟图

## 前药途径

除了制剂途径以外,另一种可供选择的方法是前药途径。前药可以定义为通过对一种具有药理活性的物质进行化学修饰生成的一种新的化学实体。这种新化学实体能够在体内重新转变成药理活性物质。这种修饰以一些有利的方式改变药物的理化性质和生物药剂学性质。

理想的前药应当具有下列特点:

- 没有药理活性;
- 比原药消除慢;
- 无毒;
- 制备便宜。

前药可用来提高或降低药物的水溶性,掩饰药物的苦味,提高药物的脂溶性,改善药物的吸收,减少药物的局部副作用以及改变母核分子的膜通透性。例如,氯霉素的溶解度只有2.5mg/mL,而其前药氯霉素琥珀酸钠的溶解度为100mg/mL。乙内酰脲类的溶解度很低,导致注射后利用度低且变化大,还会产生沉淀。为了提高苯妥英的溶解度,Stella等<sup>[12,13]</sup>制备了二苯基乙内酰脲酸的乙酯和三乙胺酯。这些酯类通过在药物分子中加入氨基提高了药物的水溶性,而在生理条件下苯妥英的环化作用是不可逆的、迅速的和完全的。

味觉的形成要求物质在水中的浓度超过一定值,因此药物的苦味可以通过减少其溶解度来掩盖。这项技术已用于对乙酰氨基酚,通过用乙烯基乙醚取代酚羟基达到掩盖苦味的作用<sup>[14]</sup>。在胃酸环境下对乙酰氨基酚的水解非常迅速。通过比较狗口服对乙酰氨基酚及其前药,发现二者产生的对乙酰氨基酚的血药浓度是相似的(图5)。

膜通透性部分取决于化合物的亲脂性。极性高的化合物亲脂性低,因此其膜渗透性低。肾上腺素就是这种类型的化合物。它治疗青光眼很有效,但却会产生许多副作用。对眼的副作用包括充血、瞳孔放大、角膜水肿以及过

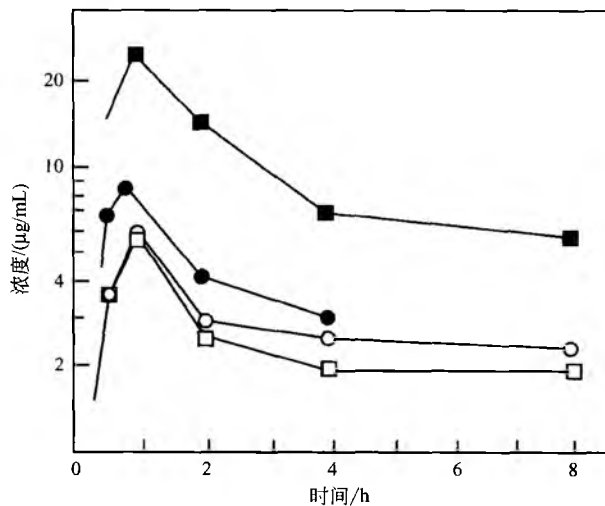


图5 对乙酰氨基酚及其乙烯基乙醚前药口服给药后对乙酰氨基酚的血药浓度。狗1给予10mg/kg剂量的对乙酰氨基酚(○)及其前药(□);狗2给予25mg/kg剂量的对乙酰氨基酚(●)及其前药(■)。不能获得狗2的0.5h前药和8h对乙酰氨基酚样品

敏。全身副作用,如心律不齐、高血压、脑血管意外、眩晕、恐惧和不安等也常被观察到。为了加强肾上腺素的吸收并降低其副作用,人们合成了一种前药,肾上腺素的二叔戊酯<sup>[15]</sup>。据研究发现,该药没有心血管症状,对心率和血压没有影响(图6),而且能够有效降低眼内压(图7)。

另外,高亲脂性的化合物,如激素,可以通过制成前药的途径进行增溶。例如,亲脂性高的药物睾酮,通过制成水溶性酯类前药,依然保留一定的亲脂性,可以使其透皮吸收率提高50倍以上<sup>[16]</sup>。前药睾酮-4-二甲氨基丁酸盐体外测试表明,其透过人体皮肤组织的速度是睾酮自身的54倍(图8)。此外,通过水解酶的作用,该前药能够在体液中迅速转变成睾酮(图9)。



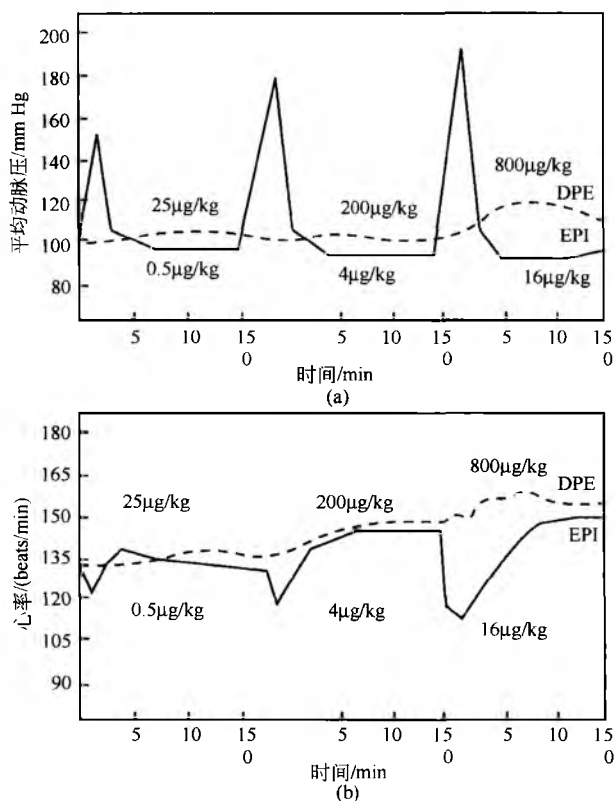


图6 (a) 静注肾上腺素 (EPI) 及其二叔戊酯前药 (DPE) 对狗血压的效应; (b) EPI 及其 DPE 对狗心率的效应

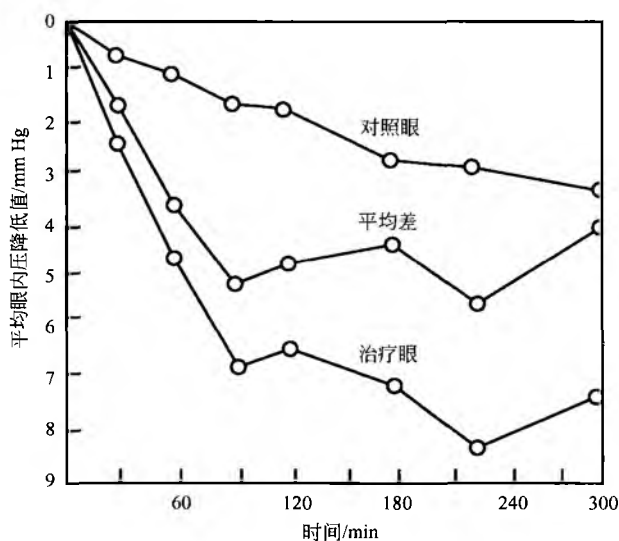


图7 一滴肾上腺素 DPE 的 0.025% 溶液对九个青光眼患者眼内压的平均效应

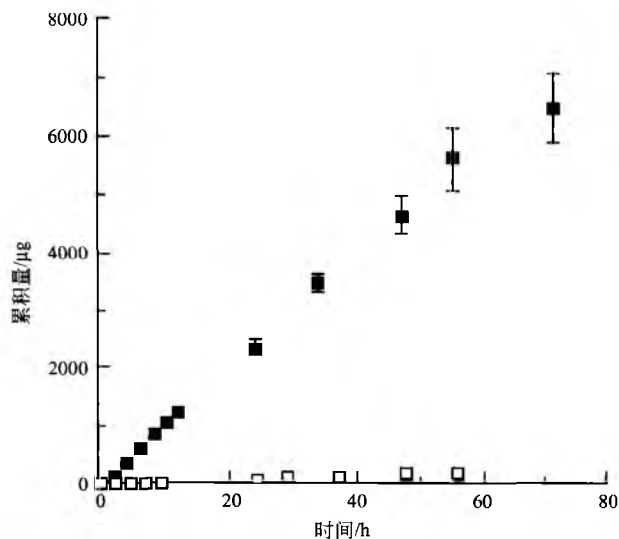


图8 在 Franz 扩散池装置 ( $n=6$ ) 中透过离体人类皮肤组织的 TS (□) 和 TSBH (■) 的累积量。TS 和 TSBH 分别以 10% 的混悬液和溶液给药。介质均为 pH 7.4 的磷酸缓冲液 (0.2mol/L)<sup>[16]</sup>

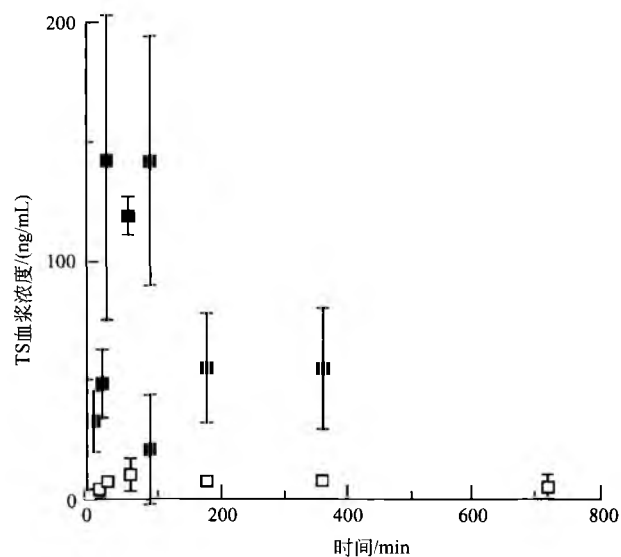


图9 在六只 HRS/J 裸鼠背部局部应用 1.25µm 的 TS (□) 或 TSBH (■) 后 TS 的总血药浓度 (放射性免疫测定)<sup>[16]</sup>

阿司匹林的口服给药会导致胃肠道出血。这是由于羧酸取代物的酸性对局部的刺激引起的。为减少阿司匹林对胃的刺激,合成了其酰化前药<sup>[17,18]</sup>。在体外该前药不依赖于环境的 pH,能迅速转化成阿司匹林。转化对介电常数的变化非常敏感,介电常数降低会引起相应的反应速率下降。这种敏感性表现为亲核反应  $S_N1$  机制。作者认为,由于阻碍了阿司匹林的电荷和酸性从而降低其对胃肠道的刺激。

## 装置途径

在作用靶点控制药物释放往往是最理想的,尤其对于迅速通过黏膜吸收或从作用靶点迅速清除的化合物。这种途径通常能够减少药物引起的全身副作用。黄体酮 T 形宫内植入器 Progestasert 和毛果芸香碱眼用置入剂 Ocusert 系统就是应用上述途径的例证。

可以设计扩散控制装置用于药物的持续释放,通常使用骨架或储库结构。对于骨架系统,药物被随机分散在整个聚合物分子中,而储库装置则是用一个完整的控释膜包裹药物。不管是何种构造,生物应用时系统都必须是安全和生物相容的。

黄体酮 T 形宫内避孕器(IUD)是一种在美国上市的避孕器(IUD),它是白色 T 形结构,由含有二氧化钛的乙烯-乙酸乙烯共聚物构成。它能够以每天  $65\mu\text{g}$  的速率持续释放黄体酮一年,由药物外面的乙烯-乙酸乙烯共聚物的包衣控制释药。Zaffaroni 指出该子宫黄体酮系统的几个优点<sup>[19]</sup>。它允许定位释放节育物质超过一年,通过使用单一天然的激素以其活性的最低有效浓度控制药物释放。一年的持续释药消除了重复口服或注射给药观察到的脉冲现象,从而提高了患者的依从性。Aznar 和 Giner<sup>[20]</sup>研究了黄体酮避孕器的有效性。他们的结果表明,该系统能够有效避免意外怀孕,同时还能减少妇女月经失血量。

毛果芸香碱 Ocusert 系统是一种镜片状装置,置于下眼结膜给药。它能够以每小时  $10\mu\text{g}$  或  $20\mu\text{g}$  的速率持续释放毛果芸香碱超过一个星期,用于治疗开角型青光眼。该系统能够显著降低眼压和缩小瞳孔直径<sup>[21]</sup>。由于减少了局部和全身的副作用,该系统极大地提高了患者的依从性,方便了治疗。

Armaly 和 Rao 以不同的释药速率考察了毛果芸香碱 Ocusert 系统的临床效果<sup>[22]</sup>。这个系统表现出剂量-效应关系,即便释药速率提高到  $50\mu\text{g}/\text{h}$  以上,也只是轻微降低眼内压,感觉不到对眼内压的影响。该系统以  $50\mu\text{g}/\text{h}$  的释药速率对眼内压的改变与给以  $4\%\sim 8\%$  毛果芸香碱溶液相当。

## 替代的给药途径

通过替代途径给药可以避免胃肠道给药可能出现的吸收和代谢屏障。这些途径可以提高口服给药由于生理条件而受限制时的生物利用度,还能提供接近静脉注射的血药浓度经时曲线图。眼部给药、鼻腔给药、肺部给药、口腔给药、透皮给药以及直肠给药具有一个或多个这些的优点。

传统的眼部给药只用于局部治疗。然而,随着大量多肽药物的涌现,眼部给药开始考虑用于全身给药<sup>[23]</sup>。多肽药物眼部给药后,可以通过眼泪回流时的黏膜以及眼结膜的血管吸收。除非是为了治疗眼部疾病,医生对将这种途径用于其他目的的治疗存在疑虑。这种途径的另一个缺点

就是眼睛对外来物质的刺激极其敏感。

鼻腔给药类似于静脉给药,能迅速达到治疗血药浓度并迅速起效。另外,吸收的药物在到达体循环前不经过肝脏,因此可以避免首过代谢。近年来,鼻腔给药作为一个便利可靠的全身给药途径受到极大的关注,尤其对于口服无效必须注射给药的药物。最近,布托啡诺酒石酸盐作为一种鼻腔喷雾剂(Stadol NS<sup>®</sup>)上市,用于减轻疼痛,如偏头痛<sup>[24]</sup>。一般适于鼻腔给药的药物需要满足以下条件:口服无效;用于慢性病;剂量小;需要快速进入体循环。

许多实验室出版的著作表明,除了个别的多肽外,许多不同化学结构的药物都能通过动物和人的鼻黏膜较好地吸收。许多作者认为,分子质量小于  $300\text{Da}$  的化合物经鼻腔吸收受药物分子理化性质的影响不明显<sup>[25]</sup>。一些因素,如药物分子的大小以及多肽与膜组分形成氢键的能力比它们的亲脂性和解离状态更为重要。例如,亲脂性极强的药物黄体酮的体内吸收速率与其苯甲酸钠盐的吸收速率相似,苯甲酸的体内吸收不受介质 pH 的影响<sup>[26]</sup>。

虽然许多药物可以通过鼻腔给药快速且定量吸收,但多肽药物通常生物利用度较低。Hussain 等检测了亮脑啡肽的鼻腔给药的生物利用度<sup>[27]</sup>。这个五肽的生物利用度低是因为其在鼻腔中水解,而二肽能够显著抑制水解。他们得出结论:极性化合物,如多肽,能够通过鼻黏膜,并且低浓度药物给药在鼻黏膜上易发生水解,可以通过同时给予对肽酶不稳定的多肽而减少亮脑啡肽的水解。

如果多肽药理活性的存在是其唯一的疗效标准,那么即使生物利用度没有  $100\%$  也可以通过鼻腔给药。然而,如果考虑到血药浓度曲线图测定的生物利用度,多肽的鼻腔给药就不是最佳的途径,除非使用吸收促进剂。吸收促进剂可能会造成刺激以及破坏膜结构的完整。鼻腔给药的其他缺点包括每次只能允许少量剂量( $0.2\text{mL}$  或更少),需要低剂量的高效药,潜在的刺激性,以及药物、辅料和其他组分长期鼻腔给药的无法预测的结果。

颊黏膜和舌下给药途径能使药物快速转移至体循环。药物从颊黏膜和舌下的血管及淋巴吸收,绕过了肝循环,因此减少了首过效应。吸收的动力是化合物的热力学活性。有机硝酸盐和睾酮已从这些途径给药,能够迅速达到有效血药浓度,并降低肝脏的代谢作用。

Alkalay 等<sup>[28]</sup>观测了甲睾酮的舌下给药情况。舌下片给药的生物利用度比口服片或口服溶液高出  $50\%$ 。这是因为舌下给药通过舌下血液和淋巴系统吸收避免了肝脏的首过代谢。

颊黏膜和舌下给药的局限包括要求所选药物具有高热力学活性,颊黏膜和舌下的给药面积大小,对药物的口味和局部刺激性有一定要求。

透皮给药不仅能适用于半衰期短和治疗指数低的药物的持续控制释放,还能避免药物的首过作用。通过该途径给药的有硝酸甘油软膏以及透皮治疗系统(贴片),如东莨菪碱贴片、硝酸甘油贴片、可乐定贴片、雌二醇贴片和烟碱贴片。

如果血药浓度超过治疗晕动病所需要的浓度,东莨菪碱就会产生一些副作用,如口干、嗜睡、心动过速、中枢系统(CNS)混乱以及健忘(图10)。0.5mg剂量的东莨菪碱微孔贴片应用于耳后(最易透过的皮肤位置)治疗晕动病可以持续作用超过三天,并且能够避免产生副作用。

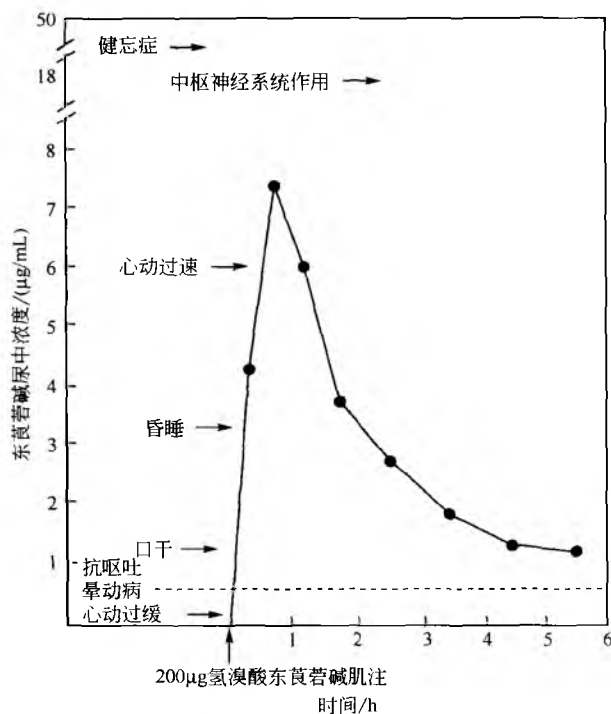


图10 东莨菪碱的尿排泄速率与其药理效应的关系;  
10%剂量的东莨菪碱以原型物从尿中排泄

透皮给药不能透过大剂量的药物,血药浓度上升比其他途径缓慢,还可能产生刺激。然而,目前已有几种利用这种途径给药的产品上市。使用具有合适亲水亲脂平衡的分子,可以促进药物有效通过角质层,从而增加其吸收<sup>[16]</sup>。

传统的直肠给药一般在因为生理条件限制(如呕吐)不能口服给药,或者药物对胃肠道黏膜有刺激性的情况下发挥作用。使用这种途径给药的药物有阿司匹林、扑热息痛、氨茶碱、异丙嗪、高氯酸异丙嗪、氯丙嗪以及吡哆美锌。直肠给药的局限在于患者的个体差异以及患者对该途径的接受能力。

本章回顾了药剂学家现有的一些剂型设计方法,能够提高某些特定药物的治疗效果。优化剂型设计的关键在于首先必须了解药物的理化性质和生物药剂学性质,还要了解可行的给药途径。一旦确定了药物的性质和存在的问题,这些剂型设计的技术便可用于优化药物的生物利用度。

### 参考文献

1. Kaplan, S. A.; Jack, M. L. Utility of Bioavailability Studies in Drug Development. *Drug Dev. Ind. Pharm.*

1977, 3, 39—64.

2. Rowland, M.; Tozer, T. N. *Clinical Pharmacokinetics; Concepts and Applications*; Lea & Febiger; Philadelphia, 1980.
3. Haleblan, J.; McCrone, W. *Pharmaceutical Applications of Polymorphism*. *J. Pharm. Sci.* 1969, 58, 911—929.
4. Haleblan, J. *Characterization of Habits and Crystalline Modification of Solids and Their Pharmaceutical Applications*. *J. Pharm. Sci.* 1975, 64, 1269—1288.
5. Wall, G. M. *Pharmaceutical Applications of Drug Crystal Studies*. *Pharmaceutical Manufacturing* 1986, 3, 33—42.
6. Tawashii, R. *Gastrointestinal Absorption of Two Polymorphic Forms of Aspirin*. *J. Pharm. Pharmacol.* 1969, 21, 701—702.
7. Berge, S. M.; Bighley, L. D.; Monkhouse, D. C. *Pharmaceutical Salts*. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 1—19.
8. Gould, P. L. *Salt Selection for Basic Drugs*. *Int. J. Pharm* 1986, 33, 201—217.
9. Anderson, B. D.; Flora, K. P. *Preparation of Water-Soluble Compounds through Salt Formation*. *The Practice of Medicinal Chemistry*; Wermuth, C. G., Ed.; Academic Press; London, 1996; 739—754.
10. Nelson, E. *Solution Rate of Theophylline Salts and Effects from Oral Administration*. *J. Am. Pharm. Assoc., Sci., Ed.* 1957, 46, 607—614.
11. Nishimura, K.; Sasahara, K.; Araj, M.; Nitani, T.; Ikegami, Y.; Morioka, T.; Nakajima, E. *Dosage Form Design for Improvement of Bioavailability of Levodopa VI: Formulation of Effervescent Enteric-Coated Tablets*. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73, 942—946.
12. Stella, V.; Higuchi, T. *Esters of Hydantoic Acids as Prodrugs of Hydantoins*. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62, 962—967.
13. Stella, V.; Higuchi, T.; Hussain, A.; Truelove, J. *The Chemistry of a Novel 5, 5-Diphenylhydantoin Prodrug. Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems*; Higuchi, T., Stella, V., Eds.; American Chemical Society; Washington, DC, 1975.
14. Hussain, A.; Kulkarni, P.; Perrier, D. *Prodrug Approaches to Enhancement of Physicochemical Properties of Drugs IX: Acetaminophen Prodrug*. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67, 545—546.
15. Hussain, A.; Truelove, J. *Prodrug Approaches to Enhancement of Physicochemical Properties of Drugs IV: Novel Epinephrine Prodrug*. *J. Pharm. Sci.* 1976, 65, 1510—1512.
16. Milosovich, S.; Hussain, A.; Dittert, L.; Aungst, B.; Hussain, M. *Testosterone-4-dimethylaminobutyrate • HCl: A Prodrug with Improved Skin Penetration Rate*. *J. Pharm. Sci.* 1993, 82, 227—228.

J

17. Hussain, A.; Yamasaki, M.; Truelove, J. Kinetics of Hydrolysis of Acylals of Aspirin; Hydrolysis of (10-ethoxy) ethyl 2-acetoxybenzoate. *J. Pharm. Sci.* 1974, 63, 627—628.
18. Hussain, A.; Truelove, J.; Kostenbauder, H. B. Effect of Hydroxyl Group Substituents of Pyran Ring on Hydrolysis Rate of Benzoates; 2-Tetrahydropyranyl benzoate. *J. Pharm. Sci.* 1979, 68, 235—236.
19. Zaffaroni, A. Special Requirements for Hormone Releasing Intrauterine Devices. Meeting on Pharmacological Models to Assess Toxicity and Side Effects of Fertility Regulating Agents; Geneva, 1974; 423—434.
20. Aznar, R.; Giner, J. Development of the Intrauterine Progesterone-Releasing System. Long-Acting Contraceptive Delivery System; Zatuchni, G. I., Goldsmith, A., Shelton, J. D., Sciarra, J. J., Eds.; Harper & Row; Philadelphia, 1983; 613—620.
21. Armaly, M. F.; Rao, K. R. The Effect of Pilocarpine Ocusert on Ocular Pressure. Symposium on Ocular Therapy; Leopold, I. H., Ed.; The C. V. Mosby Company; St. Louis, 1973; 80—94.
22. Armaly, M. F.; Rao, K. R. The Effect of Pilocarpine Ocusert with Different Release Rates on Ocular Pressure. *Investigative Ophthalmol.* 1973, 12, 491—493.
23. Lee, V. H. L. Ophthalmic Delivery of Peptides and Proteins. *Pharm. Technol.* 1987, 11, 26—38.
24. Stadol, N. S.®; Physicians Desk Reference, 54th Ed., Medical Economics Company; Montvale; NJ, 2000; 833—835.
25. Hussain, A. A. Intranasal Drug Delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1998, 29, 39—49.
26. Smith, R.; Personal Communication 1998.
27. Hussain, A.; Faraj, J.; Aramaki, Y.; Truelove, J. E. Hydrolysis of Leucine Enkephalin in the Nasal Cavity of the Rat—A Possible Factor in the Low Bioavailability of Nasally Administered Peptides. *Biochem. Biophys. Res. Communi.* 1985, 133, 923—928.
28. Alkalay, D.; Khemani, L.; Wagner, W. E.; Bartlett, M. F. Sublingual and Oral Administration of Methyltestosterone. A Comparison of Drug Bioavailability. *J. Clin. Pharmacol.* 1973, 13, 142—151.

(李明译)

# 胶体和胶体释药系统

Diane J. Burgess

University of Connecticut, Storrs, Connecticut, U. S. A.

## 简介

胶体从广义上来说至少由两种成分（可以是物质任意状态）组成的，一种分散在另一种之中，其中分散相是由大分子或小微粒组成的系统。这类系统的性质主要与分散的粒子大小有关。胶粒的大小由两方面因素决定：为了保证其流动相的连续性，流动相分子的直径大小极大地影响了分散相分子或微粒的大小；为了热动力作用大于重力，它们又要足够小，以保持热力学的稳定性，使得不会因此而沉降。这些因素导致了其直径为  $1\text{nm} \sim 1\mu\text{m}$ ，而微粒必须有一处直径处于此范围之内，才能称为胶体。例如，在纤维中观察到的胶体行为，其中只有两处直径处于胶体规定大小范围内。在胶体系统和非胶体系统间没有明显的界限，特别是在上限范围附近。一个乳液体系在其乳滴粒径大于  $1\mu\text{m}$  时，也有可能呈现出胶体的特性。Graham 于 1861 年根据希腊词汇“胶水”提出了“胶体”这个词 (rolla)<sup>[1]</sup>。

## 胶体的生物学和药学意义

自然界中许多生物组织都以胶体形式存在，如血液（红细胞在血清中的分布）和骨骼（磷酸钙在胶原质中的分布），体内还有许多大分子物质分布，包括酶及各种蛋白。胶体学在医学上应用于诊断成像（放射性同位素标记，注射用胶体）、治疗辅助（增强其他作用因子的免疫作用，如用胶体载体吸附毒素）、药物制备（如将蛋白银制成胶体状作为一种有效的杀菌剂）、剂型制备（如大分子胶体阿拉伯胶作为乳化剂或助悬剂广泛应用于乳剂、乳膏剂和混悬剂的制备中）及应用于药物靶向、控释、制剂保护中的胶体释药系统<sup>[2-4]</sup>（包括纳米颗粒、微球、脂质体和大分子药物复合体），而胶体释药系统广泛应用于局部制剂、口腔制剂、肠胃吸收制剂及吸入性制剂，读者可以通过阅读本章的相关章节来进一步了解这些系统。

## 胶体的分类

根据作为分散相的大分子或微粒与分散介质的相互作用，可以将胶体系统分成 3 类：①亲液型，在此系统中分散相溶于连续相，溶剂“喜欢”胶体；②疏液型，此系统中分散相不溶于连续相，溶剂“讨厌”胶体；③缔合胶体，此系统中分散相分子溶于连续相并且自发地“聚集”或“缔合”成胶粒大小的聚集体。

### 1. 亲液型胶体

分散相主要由可溶性大分子组成，如蛋白质分子或碳水化合物。这种胶体是热力学真溶液，就是说，此系统实际上可以看成单相系统。分散相对分散介质的性质有着直接的影响，同时为系统增加了一个额外的自由度。亲液型胶体溶液是热力学稳定系统，把溶质和溶剂混合就能自发地形成。亲水性胶体在分散过程中吉布斯自由能 ( $\Delta G$ ) 减少。 $\Delta G$  与界面大小 ( $\Delta A$ )、界面张力 ( $\gamma$ ) 和系统熵 ( $\Delta S$ ) 有关：

$$G = \gamma A - TS$$

式中： $T$  为热力学温度。

溶质和溶剂间强烈相互作用通常提供了足够的能量使得分散相分开。另外，在分散过程中，溶质熵有所增加，并且其数值通常大于溶剂熵减少的量。如果溶质与溶剂间的亲和力很高，界面张力 ( $\gamma$ ) 通常可以忽略不计；这样的话， $\gamma \Delta A$  这一项就趋向于 0。大分子胶体的形态会随着与溶剂间的亲和力而改变，如果大分子与溶剂亲和力较高，就会形成细长的结构，如果大分子与溶剂的亲和力较低，就会形成紧密的螺旋以减少和溶剂的接触面积。

### 2. 疏液型胶体

此体系中分散相破碎成小颗粒，或多或少地呈均一状地分布在溶剂中。分散相和分散介质可以由固体、液体或气体组成并能形成一个有明显相界面的两相或多相系统。由于分散相的弱分散作用，疏液型胶体是热力学不稳定体系，分散相粒子有自动聚集趋势，而系统吉布斯自由能 ( $\Delta G$ ) 也在憎液性物质分散在介质的过程中增加。随着分散程度的增大，体系总表面积变大，由此导致体系自由能变大。当微粒破碎成小颗粒的时候，体系需要做功 ( $W$ ) 来对抗颗粒间的吸引力。体系自由能的增加值与表面积增加值 ( $A$ ) 成正比：

$$G = W = 2\gamma A$$

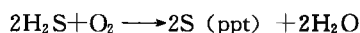
此时原先那些聚积在一起的分子都变成了表面分子，而在表面环境中这些分子的结构和能量产生了变化。这两种分子间作用力的不同导致了自由能的增加。疏液型胶体有趋向聚集的不稳定性，体系只有在颗粒表面被处理后提供了足够的排斥力才能在分散介质中保持分散状态。这种经过处理的胶粒是在热力学上是不稳定的，但在动力学上是稳定的，因此能长时间保持不聚集的状态。

#### 2.1 疏液型胶体的制备

由于疏液型胶体系统的热力学原因，疏液型胶体的制

备需要外界提供能量。如果分散相是固体，颗粒可以通过粉碎、碾磨或者控制结晶来制备。最直接的方法是在胶体磨<sup>[5~7]</sup>中碾磨。粗分散颗粒在通过两个高速旋转面间的窄缝时，会受到巨大的剪切力而被粉碎。超声波也通常用于粉碎分散相。此外，诸如表面活性剂之类的分散剂也经常用于制备稳定的胶体，这是因为表面活性剂能减少界面张力从而降低系统自由能。

制备疏液型胶体的化学方法包括溶解和复沉淀法、蒸气凝聚法，以及诸如还原反应、氧化反应、复分解反应之类的化学反应。例如，只要过饱和程度足够高，过饱和和蒸气就能形成雾；用过氧化氢或者红磷还原氯金酸（ $\text{HAuCl}_4$ ），可以得到黄金胶；硫胶可以通过如下硫化氢的氧化来制得



其中硫沉淀形成胶体分散系。

## 2.2 乳胶漆

乳胶漆是一种疏液型胶体。和固液分散系一样，乳胶漆的制备也需要外界提供能量，如超声波、匀化或者高速搅拌。只要有足够大的界面张力，形成的乳滴就会成球状。另外，如果有足够浓度的表面活性剂或表面活性剂系统，界面张力就可能降低至零，从而自发地发生乳化作用。

## 2.3 胶体矿物

诸如硅酸盐和高岭土之类的胶体矿物也是一种疏液型胶体<sup>[6]</sup>。高岭土在剂型制备中作助悬剂使用。黏土有片状晶体结构，如高岭土的晶体由交替的四面体二氧化硅和八面体氧化铝片层组成，片层间通过范德华力或氢键连接。其中，硅-氧四面体形成六元环，而这些环一个接一个连接形成平面的片状结构。要详细了解黏土胶体化学可参阅 van Olphen 的文章<sup>[8]</sup>。

## 3. 缔合胶体

缔合胶体由有两性界面的活性分子聚集或“缔合”而成。这些分子能溶于溶剂，且分子大小小于胶粒尺寸。当其在溶剂中的浓度超过临界值时（临界胶束浓度），这些分子会趋向于形成缔合胶体（胶束）（图 1）。

两性分子由两部分组成：一部分与介质有较高的亲和性（亲液性）；另一部分则与介质的亲和性较低（疏液性）。它们有聚集在分子疏液部分与介质间界面处以减少表面能的趋势。在胶束形成过程中，表面活性剂分子的疏液部分聚合形成疏液区域，同时亲液部分在胶束的外表面。读者可以参见文献 [9]、[10] 来了解初始阶段。不过并不是所有的表面活性剂都能形成胶束，因为这需要亲液部分和疏液部分之间有一个微妙的平衡。在水中，胶束的形成需要存在带电体、两性离子或者高氧含量的亲水性物质<sup>[11]</sup>。这些物质能让胶束与水之间形成氢键或者产生正负电荷作用从而维持胶束的稳定性。胶束在其他有强氢键的溶液中形成过程与在水中一样<sup>[11]</sup>。胶束的形成是自发的，主要取决于表面活性

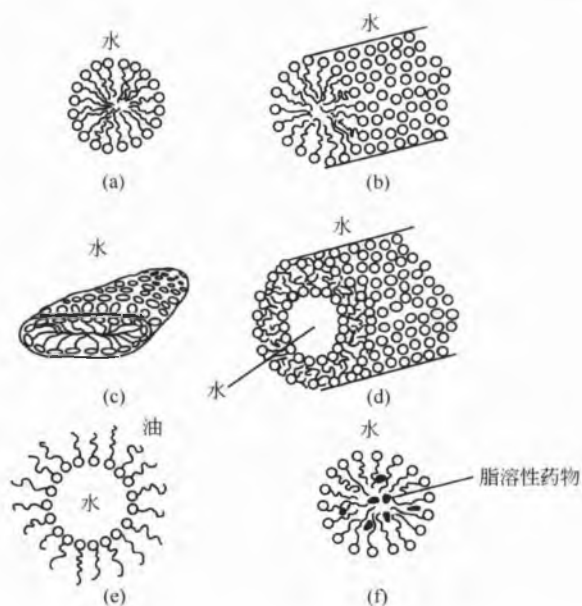


图 1 缔合胶体。(a) 球状胶束；(b) 圆柱状胶束；(c) 扁平盘状胶束；(d) 微管状胶束；(e) 反向胶束；(f) 胶束做脂溶性药物的增溶剂

剂的亲液-疏液平衡、表面活性剂的浓度以及温度。

在室温下，熵的增加促进了两性表面活性剂在水中的胶束化过程。由于排斥作用，分子的疏水基改变了其附近水的构型，而这种作用打断了氢键，并且导致了水熵的减少，这就是“疏水”效应。温度和压力对胶束的影响程度取决于表面活性剂的性质<sup>[11,12]</sup>。离子型表面活性剂有一个“Krafft”点。在这类体系中，胶束只有在温度高于临界值——Krafft 值的时候才会形成，这是表面活性剂在此时溶解度显著增加的结果。非离子型表面活性剂则恰恰相反。在超过一定的温度后（浊点），非离子型表面活性剂趋向于聚集并分离出来成为单一相<sup>[13]</sup>。

胶束的形态（图 1）取决于表面活性剂的浓度。在低浓度的时候，胶束呈球状，聚集数目清晰，呈单分散性；当超过临界胶束浓度值的时候，胶束的形态开始扭曲，成为圆棒状或扁平盘状<sup>[14]</sup>；在极高浓度的时候，则呈液晶状。在特殊条件下，表面活性剂能形成平面膜或双分子膜，并将水分隔在膜的两侧（类似生物膜）。如果这层双分子膜是连续的并且包含了一部分水，则形成囊泡（脂质体），这样就可以将不溶性药物包在胶束内使其能溶于溶剂中（图 1）。胶束溶液使得水不溶性药物的水溶液制备成为可能<sup>[18]</sup>。这种方法特别适用于水不溶性药物的静脉输液。另外，用胶束体系包含药物可以增加那些不稳定药物的稳定性，同时能提高药物的生物利用度<sup>[19]</sup>。

## 胶体的性质

胶体的主要性质包括微粒大小、形态、辐射散射和动力性质。

## 1. 微粒大小和形态

胶体大小为  $1\text{nm} \sim 1\mu\text{m}$ ，而绝大多数胶体都是杂分散体系。固态分散体通常由不规则形态的微粒组成，其中用分散法制得的颗粒形态在一方面与其晶体的自然解理面有关，另一方面与晶体上薄弱处有关（瑕疵）；用凝聚法制得的固态分散体形态则取决于不同晶面的生长率。Beddow<sup>[20]</sup>、Allen<sup>[21]</sup>和Shutton<sup>[22]</sup>提出了微粒形态的处理方法。对于微粒大小的测量则应该选取测量能够反映出微粒重要性质的方法，如有些测量的是微粒的表面积，有些测量的是其沉淀物半径等。为了描述杂分散体系，我们有必要确定微粒的大小分布状况，如今就有许多不同的理论分布函数，如正态分布（高斯分布）及对数-正态分布等。

### 1.1 显微技术

许多胶粒大小都小于光学显微镜的分辨率，但是在透射电子显微镜（TEM）和扫描电子显微镜下（SEM）<sup>[23,24]</sup>可被清楚地观察到。TEM用于给那些难以说明清楚的微粒部位成2D平面图像，但是由于其高分辨率，因此对颗粒的大小有一定的要求；SEM则可以用于3D立体图像。为了得到一个不规则微粒大小的具体值，有如下几种方法可以采用：

- Martin 直径 ( $d_m$ )：指各颗粒在投影图中同一方向将颗粒投影面积二等分的线段长度；
- Feret 直径 ( $d_f$ )：指平行于某一固定方向的颗粒两端切线之间的距离；
- 投影面积直径 ( $d_a$ )：指与微粒投影面积相等的圆的直径。

### 1.2 超速离心法

胶体微粒的 Stokes 半径可以通过测量微粒的沉降速度来得到，但是重力条件下胶体微粒的沉降十分缓慢，而超速离心能使微粒的沉降速度<sup>[21]</sup>显著提升，从而便于测量。

### 1.3 电子脉冲计数法

诸如 Coulter 计数器之类的电子计数器可以用于测定已知体积电解液中微粒的个数。当待测的悬浊液通过两侧有电极的小孔时，分散相颗粒会引起电阻的变化，从而对电流产生影响，而电阻变化与微粒体积有关。

### 1.4 光散射法

强度光散射法与动态光散射法都能用于测量胶体微粒大小。最简单的方法是测浊度。浊度是指光通过胶体时所降低的光强度。光在通过胶体时会发生散射，并导致光强度降低，通过测定浊度就可以确定亲液性胶体的平均摩尔质量<sup>[25,26]</sup>。动态光散射，又叫准弹性光散射或光子相关光谱，用于测定胶体体系的扩散系数估计值，再用 Einstein-Stokes 方程就可以得到颗粒半径<sup>[27,28]</sup>。

## 1.5 流动色层分析法

让胶体分散系通过填充有半径  $10\mu\text{m}$  左右无孔小珠的圆柱，可测定颗粒大小。不同大小的颗粒通过速度不同，因此能将其分成不同的大小级别<sup>[29]</sup>。

## 2. 辐射散射

一束窄光在通过胶体（如雾）时，会产生散射，形成一个可见的散射光锥，这就是 Faraday-Tyndall 效应<sup>[30,31]</sup>。Rayleigh 在 1871 年首先提出了关于光被小颗粒散射的详细理论，而后 Mie (1908)、Debye (1915)、Gans (1925) 进一步发展了光散射理论。van de Hulst<sup>[25]</sup>和Hiemenz<sup>[26]</sup>在其文章中对光在胶体系统中的散射做了详细阐述。当物质粒子受到电磁辐射时，会产生诱导电偶极子，而电偶极子相当于一个新光源向周围发射与入射光波长 ( $\lambda$ ) 相同的电磁波。散射光的强度取决于入射光的强度、物质的极化率、粒子的形状大小和观测的角度。散射光强度随着微粒半径增大而增大，到达某一极限值后就不再增加。小型微粒 ( $r \leq \lambda/20$ ) 类似于散射光的点光源，而在大型微粒体系中，同一微粒的不同区域都可能成为散射中心。这些散射中心会相互之间干扰，使得光抵消或加强。当微粒体系增大的时候，散射中心的数目就会增加，易于发生抵消干涉从而导致散射光强度降低。在这些相矛盾的效应的综合作用下，可见光通常会受到胶体微粒的强烈散射。

## 3. 动力学性质

胶体的动力学特征主要表现为缓慢扩散和在重力下缓慢的沉降作用（通常可以忽略不计）。

### 3.1 热运动

在英国植物学家 Robert Brown 于 1827 年第一次观察到胶体微粒的自由运动后，胶粒大小的微粒的热运动就被称为布朗运动<sup>[32,33]</sup>。微粒由于和悬浊剂分子、其他微粒以及容器壁不断碰撞，呈现出 Z 形运动。微粒在一定时间移动的距离与微粒的动能和介质的黏摩擦力有关。布朗运动的结果是，胶体微粒从高浓度区域扩散到低浓度区域，直到全部浓度均一为止。由于扩散运动与微粒半径成反比，因此和小分子或离子比起来，胶体微粒的扩散显得相对较慢。布朗运动（扩散力）与重力（导致微粒沉降）是相互对立的，胶粒大小正好使得布朗力大于重力，因此胶体能保持稳定的悬浮状态。

### 3.2 渗透作用

渗透类似于扩散，也是分子从高化学势区域移动到低化学势区域。当胶体溶液与其溶剂被能让溶剂透过但不能让溶质透过的屏障分开时，渗透压就产生了。由于纯溶剂能穿过分隔膜，将胶体分散系稀释，而胶体物质则不能穿到对面，因此膜的两侧就会产生压力差（渗透压）。渗透压具有依数性，因此与胶体物质的相对分子数量有关。

### 3.3 黏度

一个体系的黏度是反映其在外加压力下抵抗流动的情况。胶体，特别是亲液型胶体，往往会增加一个体系的黏度。体系中由于大分子链之间相互缠绕，因此抵抗流动的能力增强。一个胶体系统的黏度和胶粒的形态、相对分子质量及浓度有关。通过测定黏度，我们可以得到胶粒的近似相对分子质量。

## 疏液型胶体的稳定性

Derjaguin-Landau 和 Verwey-Overbeek (DLVO) 理论是研究疏液型胶体微粒间的相互作用的理论，这是目前比较完善的理论。此理论在 Hunter 于 1987 年与 Hiemenz 于 1986 年文章中有所提及，它假设微粒相互间的范德华力（吸引力）和静电力（排斥力）能单独处理，而微粒所表现出来的就是这两种力综合作用的结果。

### 1. 吸引力

两微粒间的范德华引力是来源于偶极-偶极间的相互作用，并与  $1/H^6$  成正比，其中  $H$  是微粒间的距离<sup>[34]</sup>。这种引力曾经解释用 Hamaker 求和方法计算范德华相互作用能 ( $V_A$ ) 时的胶体聚集现象。这种方法假设两胶体微粒独立分子间的相互作用力可以叠加并且不会受到其他分子影响。如今，Lifshitz 扩散理论推翻了 London 理论做的假设，其认为微粒间的相互吸引力会像电磁波一样在远大于原子直径的距离间传播，而胶体微粒被认为是由许多局部振动的且不断辐射能量的偶极子组成，这些偶极子同时又不吸收由周围微粒电场产生的能量。参考 Hunter 于 1987 年可以进一步了解此理论。

### 2. 排斥力

两胶体微粒间的静电力是微粒携带电荷相互作用的结果。所有的胶体微粒分散在电解质溶液中时都会因为溶液中离子的吸附、微粒表面可电离基团的电离或微粒表面选择性离子溶解而携带上电荷<sup>[36]</sup>。带电微粒会吸引反号离子（反离子）。由于这种吸引作用很强，因此一些反离子被紧紧地束缚在微粒表面，而这些反离子同时受到由本体溶液施加的源于热运动的一种吸引力。在这两种相反的力作用下，微粒表面形成了一层扩散层，使得在离微粒面一定距离的地方呈电中性，此扩散层与吸附层构成双电层<sup>[30,31]</sup>。双电层的重叠所导致的自由能变化和微粒间离子的积聚所产生的渗透压使得两微粒的双电层之间产生了相互排斥力。这种相互排斥力 ( $V_R$ ) 会随着微粒间距离变大而呈指数性下降<sup>[30]</sup>。

DLVO 理论基于这两种效应对任意距离的两微粒间的聚集不稳定性进行了阐述。微粒间的排斥力可以通过将这两种力加和得到。如图 2 中所示， $V_T$  是  $V_A$  与  $V_R$  的和 ( $V_T = V_A + V_R$ )。范德华力无论在长距离还是短距离都处于

支配性地位。到了极短距离时，范德华力显著增加，形成了一个很深的引力井（第一最小值）。由于微粒各自表面上原子间在极微距离会产生排斥力，因此这个引力井并不是无限深的<sup>[37]</sup>。事实上，邻近溶剂层界面的影响会使 DLVO 理论复杂化<sup>[38]</sup>，但是尽管聚沉动力学的机理还未清楚，DLVO 理论对绝大多数体系还是适用的。

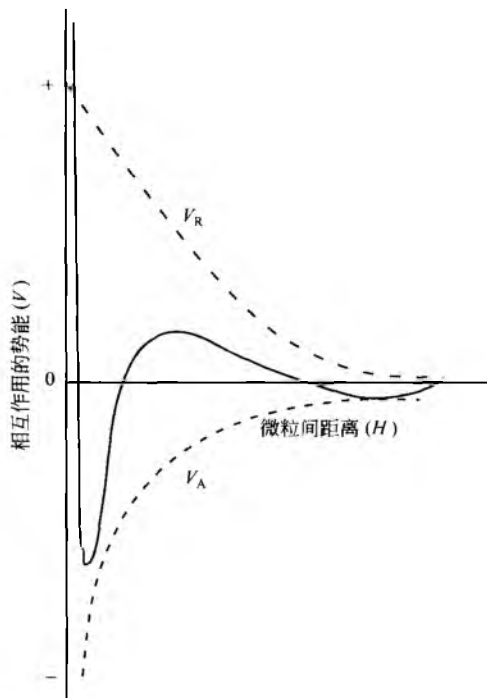


图 2  $V_T$  为两相互作用的等半径球粒间的总势能。  
 $V_A$  为范德华引力势能； $V_R$  为斥力势能； $H$  为微粒  
间距 ( $V_T = V_A + V_R$ )

### 3. 疏液型胶体的稳定

疏液型胶体有两种稳定机制：静电学稳定机制和聚合物稳定机制。静电学稳定源于电荷与电荷的排斥作用，就如前面所讨论的一样。聚合物稳定是靠大分子（亲液型胶体）吸附在疏液型胶体表面<sup>[39,40]</sup>。大分子的相对分子质量至少要上千，因为它们必须提供足够的空间距离使得范德华引力不能起作用。同时，大分子之间又要互相排斥来保持胶体的稳定性，这会使它们在微粒表面达到一个足够高的浓度时产生效果<sup>[39]</sup>。此时，胶体微粒就会因为体积限制和在一定区域内高浓度的聚合物链所导致的渗透压效应而相互排斥（图 3）。Hunter<sup>[37]</sup>对聚合物稳定做了热力学计算。在低聚合物浓度（及因此而导致微粒表面的低覆盖率）情况下，会产生桥联凝聚现象（图 4）。桥联作用是一个单独的多聚凝聚剂分子片断连接到多个微粒表面所产生的结果。一个聚合电解质能够通过空间与静电的双重稳定作用，“电-空间”稳定作用，来稳定疏液型胶体。



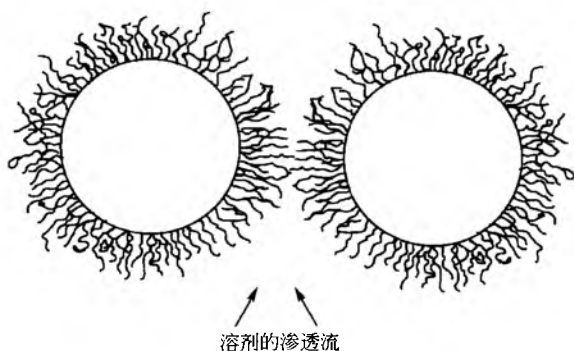


图3 胶体微粒的空间稳定性(胶体微粒间因体积限制与渗透压而相互排斥)

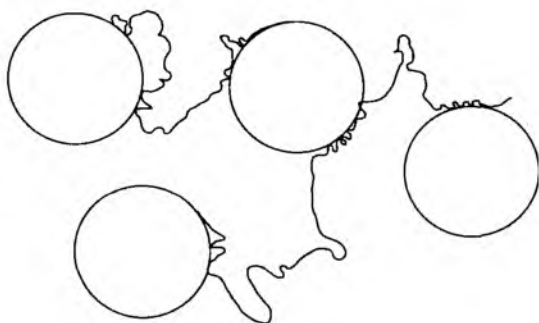


图4 桥联凝聚(疏液胶体微粒因为聚合物链的吸附而连接在一起)

## 胶体释药系统

胶体释药系统一般用于增加药物的生物利用度、提高药物的稳定性、维持和控制药物释放速率、将药物靶向到特定定位点以及激发机体免疫功能。药物控释可以通过利用聚合物载体延缓扩散来实现。读者可参见本书“微球技术及其应用”来详细了解高分子微球控释技术<sup>[41]</sup>。释药速率的控制可以让那些生物半衰期短、治疗指数窄的药物得到较好利用。靶向给药则可以通过改善药物与药物受体间作用过程、范围和性质来提高治疗指数,也能保护药物和机体免受意外或不利的因素影响。生物技术药物由于十分有效并且在起效后能迅速酶解,因此是定位释药系统的理想选择。当其包封在胶体中时,能免受降解,直接被运送到作用位点起效。靶向给药能够轻易地将药物靶向到体内一些特殊的腔隙。例如,膝关节通过被动靶向途径,直接注射入关节腔(关节内注射),就可以实现给药过程。当遇到专一性更高的情况,如药物要求被释放到某一特定器官或者器官中的一部分细胞,甚至到胞内组织的时候,通常都要用到主动靶向途径,即改变药物载体的天然分布。在另一些情况下,药物可以通过利用一些天然生理途径如巨噬细胞吞噬异物来靶向到特定的细胞或胞内组织。

胶体药物载体系统可分为两种:微粒载体(囊状、单

一状、蜂窝状)和可溶性载体(大分子药物合成物)。在可溶性载体的前期研究中,Ghose和Cerini<sup>[42]</sup>借助抗体研究了肿瘤放射性免疫定位,Ghose和Nigam<sup>[43]</sup>与Rowland等<sup>[44]</sup>则研究了药物-抗体合成物。微粒载体系统(包括脂质体、微球体、纳米微粒、微乳液剂、红细胞及疫苗)已经用于靶向给药,其中脂质体(磷脂囊)应用于靶向给药是由Sessa等<sup>[45]</sup>和Gregoriadis等<sup>[46]</sup>提出的。

微粒的大小和表面性质决定了用于静脉给药的胶体微粒在体内的命运。大于 $7\mu\text{m}$ 的微粒会很快被肺部的毛细血管床过滤下来<sup>[2,46,47]</sup>,而 $100\text{nm}\sim 7\mu\text{m}$ 的微粒则会被网状内皮系统(RES)当成异物吸收<sup>[48,49]</sup>。因此控制粒径可以实现被动靶向给药。为了靶向到其他器官的一些特定细胞,胶体载体要能通过动脉管腔(渗出)。但这一般很难实现,因为细胞膜通常是紧密排列的,而大分子物质和小颗粒也难以渗透。一般的, $5000\sim 10\,000\text{Da}$ 的分子能够被淋巴系统吸收而进入细胞间隙;而有些毛细血管膜上有大小为 $50\sim 60\text{nm}$ 的小孔,可以允许小颗粒穿过;在肝、脾和骨髓中,则存在着一些窦状小管膜或不紧密的细胞膜,这些细胞膜间存在着孔径 $150\text{nm}$ 左右的间隙;此外,在受感染或有炎症的组织也经常发生细胞膜穿孔的情况<sup>[50]</sup>;因此,胶体载体可以在这些地方促进吸收。某些药物载体复合物的胞内转运是通过内吞作用来实现的<sup>[51]</sup>。内吞囊泡形成于细胞表面,用于将液体(胞饮作用形成的囊泡)或固体(吞噬泡)转运入细胞或穿过细胞运到膜对面。某些大分子有特定的受体介导转运途径,我们也可以将其作为药物分布途径。

### 1. 靶向到 RES

被动靶向到药物到RES可用于直接治疗RES疾病(恶性肿瘤及由寄生虫、病毒、细菌引起的感染)和刺激巨噬细胞治疗肺部的转移病灶<sup>[52]</sup>。脂质体已经被用于将铈复合物靶向运送到肝脏和治疗利什曼病<sup>[53]</sup>,而纳米微粒也被用于将杀吸虫剂硝羟碘苄基脂<sup>[54]</sup>靶向运送到肝脏。如今已有多种载体被用于将细胞生长抑制剂靶向运送到RES来治疗单细胞白血病、髓性组织细胞性网状细胞增多症和某些Hodgkin氏病例<sup>[55]</sup>。巨噬细胞是抑制肿瘤细胞生长和转移的主要屏障<sup>[56~58]</sup>。巨噬细胞活性因子(如胞壁酰二肽或三肽、经修饰的淋巴因子以及干扰素等)能激发巨噬细胞抗肿瘤活性,因此可以将这些激活剂放入胶体中(如脂质体),使得其能在活性位点发挥作用(巨噬细胞)。Fidler<sup>[59]</sup>成功地在外科切除肿瘤后将淋巴因子递释到巨噬细胞从而抑制了已转移的肿瘤生长。

### 2. 避开 RES

胶体被RES摄取主要与粒径大小、表面电荷、表面疏水性和大分子在微粒表面上吸附作用有关。因此,对胶体微粒表面做出适当的修饰就能避开RES的摄取,如将亲水聚合物移植或使其吸附到粒子表面上,从而建立一个能量屏障来阻止粒子间的相互作用(如非离子型表面活性剂吐

温-20 就可以吸附在上面)<sup>[60]</sup>。如今,天然或人造的高分子聚合物都已经应用于制备胶体微粒的 RES 保护壳,如白蛋白<sup>[61]</sup>、免疫球蛋白 G<sup>[62]</sup>、羧甲基纤维素<sup>[63]</sup>、泊洛沙姆<sup>[64,65]</sup>及其乙二醇衍生物等。此外,在胶体载体系统发挥作用前预先用无效的胶体颗粒使 RES 饱和也可以避免其被 RES 摄取<sup>[66]</sup>。但是在临床上,阻塞 RES 的方法却并不为人们所接受。

### 3. 胶体载体系统分类

#### 3.1 可溶性载体系统

聚合物-药物体系至少可以分成 3 种:①直接在细胞表面起效的;②经由细胞内吞作用再起效的;③能够在细胞外可控性释放药物的<sup>[67]</sup>。载体靶向到细胞表面利用的是靶向细胞的特异性。B 型瘤细胞表面有许多表面决定簇,它们各自都有对应的特异性抗体,例如, sIgD 或 sIg 抗体特异型,而这些特异的抗体可以与药物、毒素或同位素等相结合。尽管药物-抗体复合物能够直接靶向到肿瘤位点,但是连接过程可能导致药物或抗体的失活<sup>[68]</sup>。单克隆抗体还会与正常的组织相互作用,从而引起免疫应答。此外,肿瘤变异也可能影响靶向给药的效果。特殊的、在胞内起效的药物可以借助药物载体复合物的内吞来发挥作用。不同的大分子都有其特异性受体,而这些受体都可以用于将药物转运到胞内。右旋糖酐已经被用于药物的胞外递释。

#### 3.2 微粒载体系统

脂质体:脂质体是由一层或多层脂质双分子膜构成的包含相同数量水室的人造脂质囊泡<sup>[70]</sup>。脂质体可以分成:①小单室脂质体(SUV),粒径 25~70nm,由单层脂质双分子膜构成;②大单室脂质体(LUV),粒径 100~400nm,由单层脂质双分子膜构成;③多室脂质体(MLV),粒径从 200nm 到几微米,由两层或多层同中心的双分子膜构成。未经修饰的脂质体可以被定向到肝脏的 Kupffer 细胞<sup>[71]</sup>,如今已经用于将药物靶向释放到肝脏。SUV 可以靶向到肝黄疸细胞,因为它们能穿过“筛板”。相对来说脂质体是不稳定的,运载能力也较低,对于包封的药物来说有可能出现“泄漏”的情况。但是脂质体的性质可以通过将不同的分子加到磷脂双分子膜中来改变,如胆固醇、鲸蜡磷酸酯、硬脂酸等。添加胆固醇可以增加膜稳定性,减少“泄露”情况。如今已经开发出更加稳定的聚合脂质体,这种脂质体是由半聚合的磷脂构成的。免疫球蛋白也可以附着在脂质体表面,使其能有效靶向到特定位点。另外,一种聚乙二醇包被型脂质体(聚乙二醇化),也称作“隐性”脂质体,已经制备成功,其能有效延长脂质体的生物半衰期<sup>[72~74]</sup>,这是因为包被有聚乙二醇的脂质体能避免被 RES 摄取。如今,以阳离子脂类和融合脂类制备的脂质体正应用于基因治疗过程中将 DNA 运载到目标细胞<sup>[75~77]</sup>。其中,阳离子脂类能与 DNA 分子相连,而融合脂类则能与细胞膜相融合,使得 DNA 能顺利进入细胞。

乳剂(脂质微球体):胶体大小的乳滴应用于药物输送中可以提高水不溶性药物溶解程度、药物的控释和缓释以及靶向给药;而脂肪乳浊液(如脂质乳剂)可当作营养注射液<sup>[78]</sup>。注射用乳滴的稳定性主要取决于乳化剂的性质和所含的微量组分。乳滴通常会被 RES 细胞摄取。卵磷脂是最常用的增加乳剂稳定性的乳化剂。Davis 和 Hansrani<sup>[79]</sup>在油滴融合和用磷脂类乳化剂提高油滴稳定性方面做了大量的研究。乳滴的沉降主要取决于其携带的电荷和油相的性质。植物油的乳状液在脂肪组织、泌乳期的乳腺以及心肌等处比较容易沉降<sup>[80]</sup>。用亲水性高聚物包被乳剂,能够降低其与巨噬细胞间的相互作用。乳剂的药物释放速率主要受分散相颗粒的大小和乳剂黏度影响。脂质乳剂是很稳定的体系,在室温下能保存 2a<sup>[81]</sup>,同时,其副作用极小,一次剂量可达 500mL(经常作营养注射液)。最近,Lyons 和 Carter 对静脉营养注射用乳剂体系和药物的递释进行了相关的阐述<sup>[82]</sup>。

脂蛋白:脂蛋白在体内是胆固醇、甘油三酯和磷脂的天然载体。它包括高密度脂蛋白(HDL),粒径 10nm;低密度脂蛋白(LDL),粒径 23nm;极低密度脂蛋白(VLDL),粒径 30~100nm<sup>[83]</sup>。其中,LDL 可靶向到内皮细胞<sup>[84]</sup>,而 tris-gal-cholesterol LDL 可靶向到 Kupffer 细胞中<sup>[85]</sup>。Vitols 等<sup>[86]</sup>对借助脂蛋白将药物递释到特定位点进行了论述。

微球:微球通常是呈固体状,近似于球形的微粒,内有以溶液或微晶体的形式分散于其中的药物。药物分散到微球中一般通过在生产过程中包封(聚合法、凝胶化法或者包裹技术,如凝聚和相分离技术)及以共价或离子形式连接的形式来实现,而药物装载率可高达 50%。微球可由天然聚合物(如凝胶、白蛋白)<sup>[87,88]</sup>或人造聚合物(如聚交酯、聚乙酸)制备。在制备过程中,可直接用囊膜壁壳包裹药物,也可使其分散到微球中。控制药物释放主要通过药物溶解或分散于微球骨架或微囊壁中或微球基质降解来实现。微球粒径大小为 1~1000 $\mu$ m,因此,微球通常会超出胶体的粒径范围。但是在药学文献中,粒径不超过 15 $\mu$ m 的微囊也被看做是胶体释放体系。如今,由白蛋白与氧化铁构成的磁性微球已经应用于将药物靶向到体内的一些特殊区域<sup>[89]</sup>。Davis 等<sup>[2]</sup>和 Benita<sup>[90]</sup>对聚合物微球体系进行了相关的论述。

纳米粒:纳米粒类似于微球,但是其粒径大小在纳米级范围(10~1000nm)。它不是像纳米级聚合物体系一样的“类囊体”,而是有着不连续的壳。纳米粒可用非生物降解性材料制造,如异丁烯酸甲酯<sup>[91]</sup>,也可用生物可降解性材料制造,如氰基丙烯酸酯<sup>[92]</sup>与白蛋白。Widder 等<sup>[89]</sup>成功制备了含 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的磁性白蛋白微球,其粒径仅为 10~20nm。纳米粒在主动或被动靶向释药方面都有应用。但是,纳米粒体系相对较小的粒径也限制了它们的用途,因为只有极微量的物质能被包裹在微粒中。其他类型的纳米粒体系(非生物降解性)还包括胶体硫与胶体金。胶体硫可用作一种诊断剂(标为<sup>99m</sup>Tc)。它常通过添加凝胶这种聚合物稳定剂来避免发生凝聚现象。胶体金也作为诊断剂(<sup>198</sup>Au)与治疗剂<sup>[93]</sup>来使用。同样,凝胶也作为稳定剂添加到其中。另外,经高温变性的大团<sup>99m</sup>Tc 白蛋白球也用作诊断剂。含有荧光素的聚

丙烯酰胺纳米粒可用于监测细胞进程<sup>[92]</sup>。诊断剂可以通过被动或主动的方式靶向到目标部位。微粒通过包被来避开 RES 的吞噬的技术已经应用于靶向释放诊断剂到骨髓<sup>[90]</sup>。纳米粒也用作免疫性辅药。聚甲基丙烯酸甲酯纳米粒已经被证明对破伤风毒素<sup>[92]</sup>与流感病毒<sup>[94]</sup>的有一定的辅药活性。其辅药效果已经等于或优于传统辅药胶状氢氧化铝微粒的效果。

**病毒：**病毒提供了一种独特的并且十分有效地将基因插入哺乳动物细胞如人类骨髓干细胞的方法<sup>[95]</sup>。SV40、腺病毒、疫苗病毒以及多瘤病毒都已开发成基因转移的载体。最近，一个能有效感染人体细胞的非复制性腺病毒载体已经开发出来了<sup>[96]</sup>。一个逆转录病毒基因释放系统的基本特征是：包裹在病毒颗粒中的是替代基因的 RNA 拷贝，有特异性并能成功地进入细胞质<sup>[97]</sup>。逆转录病毒是由一个 RNA-蛋白核心和一个包裹该核心的脂质外壳组成。在靶细胞上有特异性受体能与病毒糖蛋白相连，然后病毒外壳与细胞融合，使得 RNA 能够进入到细胞质中。这种基因导入的方法对一般来讲细胞是不会有损伤的。潜在的问题包括在复制过程中序列的丢失、与内在的病毒序列重组形成感染性重组病毒、细胞致癌基因的激活、病毒致癌基因的导入以及基因的失活。

#### 4. 理想药物载体系统的特点

药物载体应该能够有选择性地聚集在目标位点，要有足够的药物装载率，能在活性位点以适当的速率释放药物，在体外与体内转运到靶点过程中保持稳定，具生物降解性，无毒，不引起免疫反应，制备容易，成本低廉，做注射用剂时无菌。

#### 参考文献

- Bungenberg de Jong, H. G. A Survey of the Study Objects of the Volume. *Colloid Science: Reversible Systems*; Kruyt, H. R., Ed.; Elsevier: New York, 1949; 2, 1-17.
- Davis, S. S., Illum, L., McVie, J. G., Tomlinson, E., Eds. *Microspheres and Drug Therapy*; Elsevier: Amsterdam, 1984.
- Morimoto, Y.; Fujimoto, S. *CRC Crit. Rev. Ther. Carriers*. 1985, 2, 19-63.
- Davis, S. S.; Illum, L.; Burgess, D. J.; Ratcliffe, J.; Mills, S. N. *Microspheres a Controlled-Release Systems for Parenteral and Nasal Administration. Controlled Release Technology*; Lee, P. L., Good, W. R., Eds.; ACS Symposium Series 348; American Chemical Society: Washington, 1987; 201-213.
- Hunter, R. J. *Foundations of Colloid Science*; Clarendon Press; Oxford, 1989; 1, 1-48.
- Shaw, D. J. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, 4th Ed.; Butterworths: London, 1992; 1-8.
- Alexander, A. E.; Johnson, P. *Colloid Science*; Oxford University Press; Oxford, 1949.
- van Olphen, H. *Introduction to Clay Colloid Chemistry*, 2nd Ed.; John Waters; New York, 1977.
- Hartley, G. S. *Aqueous Solutions of Paraffin Chain Salts*; Herman et Cie: Paris, 1936.
- McBain, J. W. *Colloid Science*; D. C. Heath Boston, 1950.
- Kresheck, G. C. *Surfactants. Water A Comprehensive Treatise*; Franks, F., Ed.; Plenum Press: New York, 1975; 95-167.
- Lindman, B.; Wennerstrom, H. *Topics in Current Chemistry*; Springer: Berlin, 1980; 87, 1-83.
- Leja, J. *Surface Chemistry of Froth Flotation*; Plenum Press; New York, 1982; 284-286.
- Tanford, C. *The Hydrophobic Effect Formation of Micelles and Biological Membranes*, 2nd Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1980.
- Mittal, K. L., Ed. *Micellization, Solubilization and Microemulsions*; Plenum Press: New York, 1977; 1 and 2.
- Everett, D. H. *Basic Principles of Colloid Science*; Royal Society of Chemistry, Paperbacks; London, 1987; 153-166.
- Tadros, Th. F., Ed. *Surfactants*; Academic Press; London, 1984.
- Mukerjee, P.; Mysels, K. J. *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems*, NSRDS-NBS36, National Bureau of Standards, US Government Printing Office; Washington, DC, 1971.
- Elworthy, P. H.; Florence, A. T.; MacFarlane, C. B. *Solubilization by Surface Active Agents*; Chapman and Hall: London, 1968.
- Beddow, J. K. *Particulate Science and Technology*; Chemical Publishing; New York, 1980.
- Allen, T. *Particle Size Measurement. The Powder Technology Series*; Williams, J. C., Ed.; Chapman and Hall; London, 1975.
- Shutton, H. M. *Characterization of Powder Surfaces*; Parfitt, G. D., Sing, K. S., Eds.; Academic Press; London, 1976; Ch. 3.
- Hall, C. E. *Introduction to Electron Microscopy*, 2nd Ed.; McGraw-Hill; New York, 1966.
- Silverman, L.; Billings, C. E.; First, M. W. *Particle Size Analysis in Industrial Hygiene*; Academic Press; New York, 1971.
- van de Hulst, H. C. *Light Scattering by Small Particles*; Dover Publications, Inc.; New York, 1981.
- Hiemenz, P. C. *Principles of Colloid and Surface Chemistry*, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1986; 160-208.
- Chabay, I.; Bright, D. S. J. *Colloid Interface Sci.*; 1978, 63, 304-309.

28. Spragg, S. P. *The Physical Behaviour of Macromolecules with Biological Functions*; Wiley: New York, 1980; 126—140.
29. Hunter, R. J. *Foundations of Colloid Science*; Clarendon Press: Oxford, 1989; I, 104—167.
30. Verwey, E. J. W.; Overbeek, J. Th. G. *Theory of Stability of Lyophobic Colloids*; Elsevier: Amsterdam, 1948.
31. Heimenz, P. C. *Principles of Colloid and Surface Chemistry*, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1986; 661—731.
32. Shaw, D. J. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, 2nd Ed.; Butterworths: London, 1992; 41—48.
33. Everett, D. H. *Basic Principles of Colloid Science*; Royal Society of Chemistry; Paperbacks: London, 1987; 76—108.
34. London, F. Z. *Phys.* 1930, 63, 245.
35. Lifshitz, E. M. *Sov. Phys.; JETP* 1956, 2, 73.
36. Shaw, D. J. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, 4th Ed.; Butterworths: London, 1992; 133—180.
37. Hunter, R. J. *Foundations of Colloid Science*; Clarendon Press: Oxford, 1989; I, 395—493.
38. Israelachvili, J. N.; Pashley, R. M. *Nature* 1983, 306, 249.
39. Napper, D. H. *Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersions*; Academic Press: New York, 1983.
40. Sato, T.; Ruch, R. *Stabilization of Colloidal Dispersions by Polymeric Adsorption*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1980; IV, Surfactant Science Series.
41. Burgess, D. J.; Hickey, A. J. *Microsphere Technology and Application. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 2nd Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000.
42. Ghose, T.; Cerini, M. *Nature* 1969, 222, 993—995.
43. Ghose, T.; Nigam, S. P. *Cancer* 1972, 29, 1398—1400.
44. Rowland, G. F.; O'Neil, G. J.; Davies, D. A. L. *Nature* 1972, 255, 487—488.
45. Sessa, G.; Weissmann, G. J. *J. Clin. Invest* 1969, 48, 76a—77a.
46. Gregoriadis, G.; Leathwood, P. D.; Ryman, B. E. *FEBS Lett.* 1971, 14, 95—99.
47. Illum, L.; Davis, S. S. *J. Parent. Sci. Technol* 1982, 36, 242—248.
48. Bellanti, J. A. *Immunology III*. W. B. Saunders: Philadelphia, 1985; 598.
49. Illum, L.; Jones, P. D. E.; Davis, S. S. *Microspheres and Drug Therapy Pharmaceutical, Immunological and Medical Aspects*; Davis, S. S., Illum, L., McVie, J. C., Tomlinson, E., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1984; 353—363.
50. Mizushima, Y.; Wada, Y.; Etoh, Y.; Watanabe, K. *J. Pharm. Pharmacol.* 1982, 34, 49—50.
51. Trouet, A.; Deprez-De Campeneere, D.; DeDuve, C. *Nature (New Biol.)* 1972, 235, 110—112.
52. Poste, G.; Fidler, I. J. *Design of Models for Testing Cancer Therapeutic Agents*; Fidler, I. J., White, R. J., Eds.; Van Nostrand Reinhold: New York, 1982; 225—238.
53. New, R. R. C.; Chance, M. L.; Thomas, S. C.; Peters, W. *Nature* 1978, 272, 55—56.
54. Marly, J. J.; Oppenheim, R. C. *Austr. J. Pharm. Sci.* 1977, 6, 65—76.
55. Poste, G. *Receptor-Mediated Targeting of Drugs*; Gregoriadis, G., Poste Senior, J. G., Trouet, J., Eds.; Plenum Press: New York, 1985; 427—474.
56. Kleinerman, E. S.; Erickson, K. L.; Schroit, A. J.; Folger, W. E.; Fidler, J. *Cancer Res.* 1983, 43, 2010—2014.
57. Kleinerman, E. S.; Fidler, L. S. *Novel Approaches to Cancer Chemotherapy*; Sunkura, P. S., Ed.; Academic Press: New York, 1984; 231—249.
58. Phillips, N. C.; Moras, M. L.; Chedid, L.; Lefrancier, P.; Bernard, J. M. *Cancer. Res.* 1985, 45, 128—134.
59. Filder, I. J. *Science* 1985, 208, 1460—1471.
60. Davis, S. S.; Illum, L. *Site-Specific Drug Delivery*; Tomlinson, E., Davis, S. S., Eds.; John Wiley & Sons: Chichester U. K., 1986; 93—110.
61. Poznansky, M. J. *Pharmacol. Ther.* 1983, 51, 53—76.
62. Borel, Y. *Immunol. Rev.* 1980, 50, 71—104.
63. Diner, U. E.; Kunimoto, D.; Diener, E. L. *J. Immunol* 1979, 122, 1886—1891.
64. Illum, L.; Davis, S. S. *FEBS Lett* 1984, 167, 79—82.
65. Leu, D.; Manthey, B.; Kreuter, J.; Speiser, P.; DeLuca, P. P. *J. Pharm. Sci* 1984, 73, 1433—1437.
66. Proffitt, R. T.; Williams, L. E.; Presant, C. A.; Tin, G. W.; Uliana, J. A.; Gamble, R. C.; Baldeschweiler, J. D. *Science* 1983, 220, 502—505.
67. Kopecek, J.; Duncan, R. *Poly [N-(2-Hydroxy Propyl) Methacrylamide] Macromolecules as Drug Carrier Systems. Polymers in Controlled Drug Delivery*; Illum, L., Davis, S. S., Eds.; Wright: Bristol, UK, 1987; 152—187.
68. Vitetta, E. S.; Fulton, R. J.; Uhr, J. W. *Site-Specific Drug Delivery*; Tomlinson, E., Davis, S. S., Eds.; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 1986; 69—91.
69. Schacht, E. *Polymers in Controlled Drug Delivery*; Illum, L., Davis, S. S., Eds.; Wright: Bristol, UK, 1987; 131—151.
70. Szoka, F. J.; Paphadjopoulos, D. *Ann. Rev. Biophys.*

- Bioeng 1980, 9, 467—508.
71. Godfredsen, C. F.; Van Berkel, Th. J. C.; Kruijt, J. K.; Goethals, A. *Biochem. Pharmacol* 1983, 32, 3389—3396.
  72. Gabizon, A.; Martin, F. Polyethylene Glycol-Coated (Pegylated) Liposomal Doxorubicin. Rationale for Use in Solid Tumours. *Drugs* 1997, 54, 15—21.
  73. Torchilin, V. P. Polymer-Coated Long-Circulating Micro-particulate Pharmaceuticals. *J. Microencapsul.* 1998, 15 (1), 1—19.
  74. Lasic, D. D., Martin, F., Eds. *Stealth Liposome*; CRC Press; Boca Raton, FL, 1995.
  75. Felgner, P. L. Nonviral Strategies for Gene Therapy. *Sci. Am.* 1997, 276 (6), 102—106.
  76. Felgner, P. L.; Ringold, G. M. Cationic Liposome-Mediated Transfection. *Nature* 1989, 337, 387—388.
  77. Templeton, N. S.; Lasic, D. D. New Directions in Liposome Gene Delivery. *Mol. Biotechnol* 1999, 11 (2), 175—180.
  78. Davis, S. S. The Stability of Fat Emulsion for Intravenous Administration. *Advances in Clinical Nutrition: Selected Proceedings of the 2nd International Symposium*; Johnston, I. D., Ed.; Lancaster, England, 1983; 213—239.
  79. Davis, S. S.; Hansrani, P. J. *Colloid Interface Sci.* 1985, 108, 285—287.
  80. Schoeft, G. I.; French, J. E. *Proc. Roy. Soc. Lond. [Biol.]* 1968, 109, 153—165.
  81. Mizushima, Y. *Drugs Expt. Clin. Res.* 1985, XI (9), 595—600.
  82. Lyons, R. T.; Carter, E. G. Lipid Emulsions for Intravenous Nutrition and Drug Delivery. *Lipid Technologies and Applications*; Gunstone, F. D.; Padley, F. B., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 535—556.
  83. Mahley, R. W.; Innerarity, T. L. *Biochim. Biophys. Acta* 1982, 737, 197—222.
  84. Nagelkerke, J. E.; Barto, K. P.; Van Berkel, Th. J. C. *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 12221—12227.
  85. Van Berkel, Th. J. C.; Kruijt, J. K.; Spanjer, H. H.; Nagelkerke, J. F.; Harkes, L.; Kempen, H. J. M. *J. Biol. Chem.* 1985, 260, 2694—2699.
  86. Vitols, S. G.; Masquelier, M.; Peterson, C. O. *J. Med. Chem.* 1985, 28, 451—454.
  87. Burgess, D. J.; Carless, J. E. *Int. J. Pharm.* 1985, 27, 61—70.
  88. Burgess, D. J.; Davis, S. S.; Tomlinson, E. *Int. J. Pharm.* 1987, 39, 129—136.
  89. Widder, K.; Bouret, G.; Senyei, A. J. *Pharm. Sci.* 1979, 68, 79—82.
  90. Benita, S. *Microencapsulation*; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1996.
  91. Birrenback, G.; Speiser, F. J. *Pharm. Sci.* 1976, 65, 1763—1766.
  92. Couvreur, P.; Kante, B.; Roland, M.; Guiot, P.; Bauduin, P.; Speiser, P. J. *Pharm. Pharmacol* 1979, 31, 331—332.
  93. Wade, A., Ed. *Martindale: The Extra Pharmacopoeia*; The Pharmaceutical Press; London, 1997; 1357—1358.
  94. Kreuter, J.; Liehl, E. *Microbiol. Immunol.* 1978, 165, 111—117.
  95. Wilson, G. *Gene Therapy: Rationale and Realisation. Site-Specific Drug Delivery*; Tomlinson, E., Davis, S. S., Eds.; John Wiley & Sons; Chichester, UK, 1986; 149—164.
  96. Karlson, S.; Humphries, R. K.; Gluzman, Y.; Nienhuis, A. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1985, 82, 158—162.
  97. Varmus, H. E. *Science* 1982, 216, 812—820.

### 进一步阅读 (胶体)

#### 1. 现代前沿论文

- Hiemenz, P. C.; Rajagopalan, R. *Principles of Colloid and Surface Chemistry*, 3rd Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1999.
- Hunter, R. J. *Foundations of Colloid Science*; Clarendon Press; Oxford, 1992; I.

#### 2. 基础性论文

- Everett, D. H. *Basic Principles of Colloid Science*; 1989.
- Shaw, D. J. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, 4th Ed.; Butterworths; London, 1992.

#### 3. 泛读

- Alexander, A. E.; Johnson, P. *Colloid Science*; Cambridge University Press; Cambridge, 1949; 2vols.
- Baldwin, R. W.; Byers, V. S. *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy*; Academic Press; London, 1985.
- Benita, S. *Microencapsulation*; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1996.
- Davis, S. S.; Illum, L.; McVie, J. G.; Tomlinson, E. *Microspheres and Drug Therapy Pharmaceutical and Medical Aspects*; Elsevier; Amsterdam, 1984.
- Diederichs, J. E.; Muller, R. E. *Future Strategies for Drug Delivery with Particulate Systems*; CRC Press; Boca Raton, FL, 1998.
- Donbrow, M. *Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy*; CRC Press; Boca Raton, FL, 1992.
- Everett, D. H. *Colloid Science (Specialist Periodical Reports)* vols. 1—3; The Chemical Society; London, 1973—1979; 4, The Royal Chemical Society, London, 1983. (Reviews of advances in the period 1970—1981.)

J

- Freundlich, H. *Colloid and Capillary Chemistry*, 1st Engl. Ed.; Methuen: London, 1926.
- Gregoriadis, G.; Poste, G.; Senior, J.; Trouet, A. *Receptor Mediated Targeting of Drugs*; Plenum: New York, 1985.
- Guiot, P.; Couvreur, P. *Polymeric Nanoparticles and Microspheres*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1986.
- Hatschek, E., Ed. *The Foundations of Colloid Chemistry*; Ernest Benn: London, 1925, This book contains reprints and translations of papers by Ascherson, 1840; van Bemmelen, 1888; Faraday, 1857; Graham, 1864; Carey-Lea, 1889; Muttman, 1887; Selmi, 1845.
- Illum, L.; Davis, S. S. *Polymers in Controlled Drug Delivery*; Wright: Bristol, UK, 1987.
- Kreuter, J. *Colloidal Drug Delivery Systems*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994.
- Muller, R. H. *Colloidal Carriers for Controlled Drug Delivery and Targeting: Modification, Characterization, and In Vivo Distribution*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991.
- Ostro, M. J. *Liposomes*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1983.
- Parfitt, G. D. *Principles of the Colloid State; Monographs for Teachers*; Royal Institute of Chemistry: London, 1967; No. 14.
- Popiel, W. J. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*; Exposition Press: New York, 1978.
- Spragg, S. P. *The Physical Behaviour of Macromolecules with Biological Functions*; John Wiley and Sons: New York, 1980.
- Tomlinson, E.; Davis, S. S. *Site-Specific Drug Delivery*; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 1986.
- Van Olphen, H.; Mysels, K. J. *Physical Chemistry: Enriching Topics from Colloid and Surface Science*; IUPAC Commission: La Jolla CA, 1975; 1. 6, Theorex.
- Void, M. J.; Void, R. D. *Colloid Chemistry*; Chapman and Hall: London, 1965.
- Von Buzagh *Colloid Systems*; Technical Press: London, 1937.
- Ward, A. G. *Colloids*; Blackie and Son: London, Glasgow, 1945.
4. 综述
- Davis, S. S. *Pharm. Techno. Colloids and Drug Delivery Systems* 1987, 11, 110—117.
- Morimoto, Y.; Fujimoto, S. *CRC Crit. Rev. Ther Drug Carrier Systems* 1985, 2, 116—119.
- Oppenheim, R. C. *Solid Colloidal Drug Delivery Systems: Nanoparticles*. *Int. J. Pharm.* 1981, 8, 217—234.
- Tomlinson, E. *Theory and Practice of Site-Specific Drug Delivery*. *Adv. Drug Deliver Rev.* 1987, 1, 187—198.
- Torchilin, V. P. *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Systems* 1985, 2, 65—115.

(刘 敏 译)

## 结晶对产品开发、加工和性能的重要性

Nair Rodriguez-Hornedo

Brent D. Sinclair

University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, U. S. A.

### 引言

理解结晶的过程对合理的处方设计、工艺开发和药品的稳定性非常重要。热力学描述的是系统的平衡行为，而药品在加工、储存或运输过程中往往会遇到非平衡的情况。这些情况将导致亚稳定液体或固体的产生。亚稳定液体的形态可包括冷冻的浓缩液、受 pH 变化影响的弱酸或弱碱溶液、弱酸或弱碱盐溶解而成的溶液和高能形态溶解而成的溶液。亚稳定固体的形态包括无定形固体、多晶型固体和溶剂化固体。由于结晶提供了一种可使系统的自由能降低以达到最稳定的方法，所以结晶机制及其动力学决定了达到及保持亚稳定状态的程度。

平衡相图在鉴别浓度（或活度）和固相热力学稳定的温度范围时很有用，因此结晶动力学对决定固相产物来说是必不可少的。成核和生长的速度既可控制所需的固态修饰物的分离，也可控制颗粒大小分布（微粒数目、平均直径及标准偏差）和颗粒的形状或形态学。缺乏对结晶过程的认识会导致不必要的或以前不知道的晶核的形成，从而损坏药品的开发。Dunitz 和 Bernstein<sup>[1]</sup>证明，“渐渐消失或难以捉摸的多晶型体”，在多晶型体系结晶时会造成结晶过程难以控制的后果。由于突然形成的结晶结构与经过几个月才得到的晶体结构不同，造成了最近 HIV 蛋白酶抑制剂 Norvir（利托那韦）胶囊供应的短缺<sup>[2]</sup>，这说明晶核形成的机理及动力学对结晶起到决定性作用。Nichols 和 Frampton<sup>[3]</sup>报道了经过巨大努力后，仍没能拿到扑热息痛亚稳定晶体（如有关晶体结构的早期出版物<sup>[4]</sup>所描述的）。FDA 认识到结晶动力学在决定晶体修饰物外观方面起到关键作用，并在药物生产指南中说明<sup>[5]</sup>：“为了生产所需要的固体形态，应该建立合理的生产和控制方法（必要时包括过程中的测试）。应该强调生产工艺（或储存条件）对生产特殊多晶型物或溶剂化物来说是主要的，而控制方法仅仅决定产物。”

本章的目的是描述利用晶体结构、形态学和结晶动力学可重现地维持亚稳定状态及控制固态产物的方法，并介绍从溶液中结晶的因素的实验方法。

### 结晶

结晶相是溶液中分子聚集作用的结果。这些成核前的集束经过足够的时间后达到一定的大小，长成肉眼可见的

晶体。溶液中晶体形成的速度及原理取决于多方面的因素，包括如下因素：

- 溶解度或溶度积（溶度积在非化学计量成分的溶液中是很重要的）；
- 过饱和度，参与结晶的结晶溶质或离子的浓度；
- 扩散率或黏度；
- 温度；
- pH；
- 溶剂；
- 可溶性添加剂及杂质；
- 晶面活性对晶核形成的影响；
- 溶液体积；
- 过饱和现象形成的速度。冷却速度、冷冻速度、pH 改变速度。

这些因素对结晶过程的影响在不同的书中已做了详尽的解释<sup>[6~10]</sup>。

结晶微型技术转化为可重现的较大规模的工艺问题，要求对结晶动力学进行认真的思考和研究。然而在实际操作中，描述结晶方法的比较有用的变量通常和结晶产物有关，对于开发一个能得到可靠的产物的工艺来说，这种方法缺少有意义的信息，因为没有详细地考虑决定结晶动力学和产物的因素。例如，比较下面两种描述多晶型物的选择性结晶工艺：① I 型由冷却得到，II 型由蒸发得到；② I 型是在过饱和度  $x$ 、温度  $y$  和时间  $z$  条件下当结晶开始后获得结晶，II 型在过饱和度  $x'$  等条件下时得到。前一种方法是无稽之谈，后者运用了形成的因素，并说明了结晶动力学参数和产物之间的关系。

只要能获得所需要的信息，就有可能控制晶核形成和晶体成长的过程。Nichols 和 Frampton<sup>[3]</sup>在研究扑热息痛多晶型物的结晶时，发现用目标固相作晶种以及固相收集时间对目标多晶型物的分离有重要影响。以前报道的方法<sup>[4]</sup>“从乙醇中缓慢蒸发”不能得到正交的多晶型物（亚稳态）。Dunitz 和 Bernstein<sup>[1]</sup>通过考虑不同的例子和以前未能回答的相关问题解释了多晶型物消失的秘密。他们认为，“一旦得到某种多晶型物，就总有可能再得到它；这只是一个找到合适的实验条件的问题。”

### 过饱和度

如果固相的化学势小于溶解组分的化学势，固相就会从溶液中沉淀出来。一个溶液，其中溶质的化学势与相应

的固相的化学势相同,在给定的条件下(温度、pH及浓度),这种溶液与固相达到平衡时被称作饱和溶液。然而为了生成结晶,必须超过这种平衡浓度或溶解度。这种过量的平衡浓度或化学势被称作过饱和度。过饱和状态可以由以下方法得到:

(1) 调节溶质活度或活度积(浓度)的方法,具体包括:

- 移除溶剂(蒸发或冷冻);
- 加入含有参与沉淀离子的惰性盐(将 NaCl 加入磷酸钠溶液中,引起  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  的沉淀);
- 溶解亚稳态固相(从无定形转到晶型,从无水物转到水合物,从较易溶解的多晶型物转到较难溶解的多晶型物,以及从盐转到游离酸或游离碱)。

(2) 调节溶质溶解度的方法,具体包括:

- 改变温度;
- 改变 pH;
- 加入能降低溶质溶解度的溶剂或添加物。

了解结晶的推动力的知识是必要的,这样不仅能知道动力学的特征也能将调节结晶的参数与结晶产物联系起来。形成有效核团所需要的分子数与过饱和度成反比。因此,随着过饱和度的增加,成核的可能性也随之增加。但是,成核对能量的需求比晶体长大对能量的需求更多,并且存在过饱和区,在过饱和区晶体开始长大而自发成核受到抑制(亚稳态区)<sup>[6,7,9]</sup>。

成核和生长的驱动力是过饱和溶液中溶质的化学势( $\mu_1$ )和饱和溶液中溶质的化学势( $\mu_{eq}$ )的差,即

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_{eq} \quad (1)$$

由于  $\mu = \mu^0 + RT \ln a$ , 因此有

$$\Delta\mu = RT \ln(a/a_{eq}) = RT \ln(\gamma_1 c_1 / \gamma_{eq} c_{eq}) \quad (2)$$

过饱和度为

$$\sigma = \Delta\mu / RT = \ln(a/a_{eq}) = \ln(\gamma_1 c_1 / \gamma_{eq} c_{eq}) \quad (3)$$

如果活性系数  $\gamma$ , 在给定的浓度范围内与浓度无关, 则  $\gamma_1 = \gamma_{eq}$ , 过饱和度则变为

$$\sigma = \ln(c/c_{eq}) = \ln(c/s) \quad (4)$$

式中,  $c$  为过饱和溶液中结晶物质的浓度;  $s$  为溶解度(采用这种记号是为了避免采用下标)。当  $c/s$  值小于 1.15 时, 则有

$$\sigma = \ln(c/s) \approx (c-s)/s \quad (5)$$

经常采用的过饱和度的表达式是  $[(c-s)/s]$  和比值  $(c/s)$ 。如果是通过改变 pH 达到过饱和, 则溶液浓度与给定 pH 下的溶解度的比值就是过饱和度的比值。图 1 描述了 pH 变化对弱碱性药物 ( $\text{pK}_a=5.25$ ) 过饱和度影响的例子。当溶液的 pH 沿直线 ABC 所示路径增加, 达到 C 点所对应的 pH 时, 就发生自发结晶。当超过这一界限(例如, pH 增加超过 C 点), 成核速度快速增加, 结晶过程可能变得不易控制。溶液的浓度随晶核的形成和长大而降低, 直到最终 pH 达到 D 点的平衡浓度为止。如果浓度保持在 B 点与 C 点之间的某一 pH, 溶液处于亚稳态区, 在这一区域内当加入晶种后晶体开始长大, 而自发成核的可能性可被

忽略。

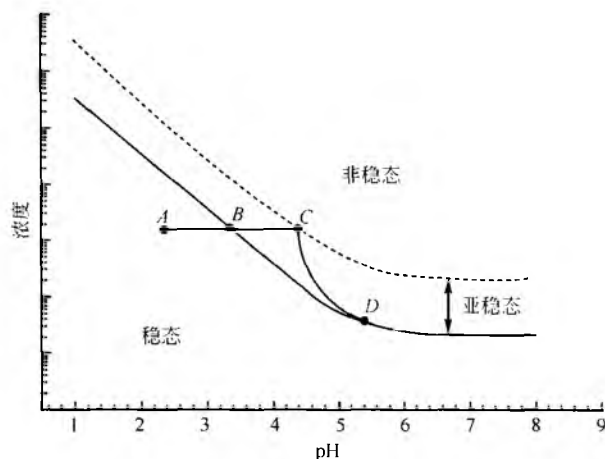


图 1 弱碱性溶液随 pH 变化时热力学稳定性变化的范围

## 晶核形成

晶核形成常常是结晶过程的决定性步骤,在制药体系中有很重要的实际意义。制药工艺中的结晶可能在达到过饱和状态时有意或无意地发生。制药工艺中达到过饱和状态是由于溶剂被除去所引起的,包括冷冻、冷冻干燥、喷雾干燥和湿颗粒干燥。其他工艺,如在分离固体时或在 pH 变化的情况下溶解弱碱时改变溶解度来实现过饱和,如以前曾提到过的在胃肠道中那样。

结晶出现的时间短于加工时间或短于规定的产品储存期或胃肠道运转的时间,此时的浓度界限由过饱和态的动力学稳定性所决定,受晶核形成机制及其动力学的控制。成核现象对微粉特性的控制和特殊多晶型体的选择性结晶也同样重要。

在磷酸钠缓冲液冷冻过程中发生由结晶引起的 pH 变化,说明了动力学在决定最终的 pH 和产物稳定性方面的重要性。对在接近平衡条件下冷冻过程中磷酸钠缓冲液的 pH 变化已进行了彻底的研究<sup>[11,12]</sup>, 冷冻过程中磷酸钠缓冲液的相图、相态、组成和 pH, 如图 2 所示。然而,在冷冻干燥过程中,在接近平衡状态时不会发生冻结,而经常会遇到过冷和过饱和的情况<sup>[13~16]</sup>。在磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的亚共晶溶液的冷却过程中,冰的结晶增加了总盐的浓度,当其中一种盐产生沉淀时溶解的盐的比例就会发生改变。磷酸氢二钠十二水合物是体系中溶解度最小的盐(低共熔温度为  $-0.5^\circ\text{C}$ , 低共熔浓度为  $0.11 \text{ mol}$ ), 在接近平衡点冷冻时,它在初始 pH 大于 3.6, 温度大于三相低共熔温度—— $-9.9^\circ\text{C}$  时首先沉淀。这相当于三相共晶组成中磷酸二氢钠与磷酸氢二钠的摩尔比为 3.42 : 0.06。因为  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  沉淀时消耗  $\text{HPO}_4^{2-}$ , 所以未冻结溶液的 pH 降至平衡值 3.6。

如果想设计一个处方进行冷冻干燥,而活性物质成分在较窄的 pH 范围内才有最好的稳定性,在冷冻前制备的处方所设计的初始 pH 和缓冲液浓度应该是多少才能使在



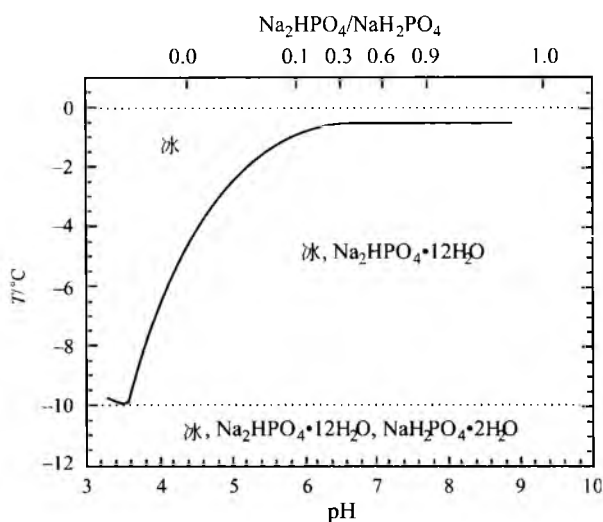


图2 磷酸钠缓冲液冷冻平衡过程中 pH 及磷酸二氢钠与磷酸氢二钠盐的比例, 起始缓冲液浓度为 20mmol/L<sup>[11]</sup>

冷冻过程中 pH 保持在指定的范围内? 换句话说, 在冷冻干燥过程中达到冷冻浓度时是否会发生选择性盐结晶, 在此体系中盐结晶与浓度的关系如何? 从热力学角度考虑, 如果冰和  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  的结晶达到平衡时, 冰冻至  $-10^\circ\text{C}$ , 磷酸钠缓冲溶液的浓度可望达到 3.5 mol/L, pH 达到 3.6。在低速冷冻并使用晶种的情况下可能会是这样, 因为此时残留溶液的 pH 和组成非常接近于相图 (图 3)<sup>[11]</sup>。但与平衡行为相反, 研究表明, 在远离平衡点时冷冻磷酸钠缓冲液, 发现缓冲液越稀 (起沉淀作用的离子

浓度较低) 与平衡态差距越大, 且 pH 保持在高于平衡 pH3 个单位<sup>[17]</sup>。因此, 结晶引起的 pH 变化由控制盐结晶动力学的因素所决定, 并依赖于初始的盐浓度 (pH 和浓度)。

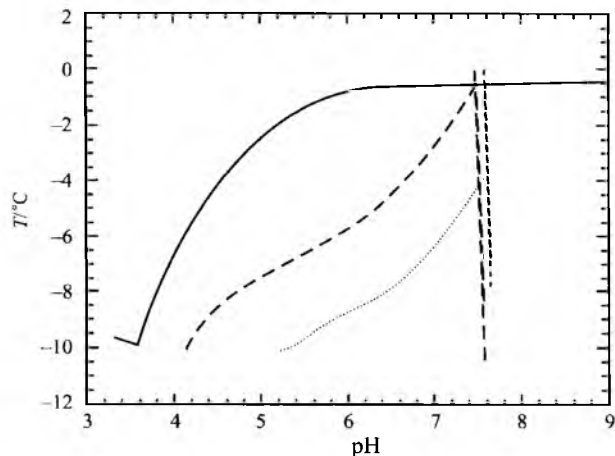


图3 磷酸钠缓冲液平衡与远离平衡时冷冻过程中 pH 的比较。平衡冷冻 (—), 初始缓冲液浓度为 20mmol/L; 远离平衡时冷冻, 初始缓冲浓度为 100mmol/L (---) 及 8mmol/L (...) <sup>[11,17]</sup>

然而, 冷冻过程中不直接测定缓冲盐的浓度, 而是由在线测得的 pH 计算出来。冷冻过程中的温度-pH 时间曲线图说明, 初始 pH 为 7.4 和初始浓度在 8~100mmol/L 的范围内时, 磷酸钠缓冲液中冰结晶开始 (温度升高), 随后  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  开始结晶 (pH 降低) (图 4)<sup>[17]</sup>。这种盐在冷冻过程中沉淀非常早, 通常在冰结晶开始后 15min 内即开始。

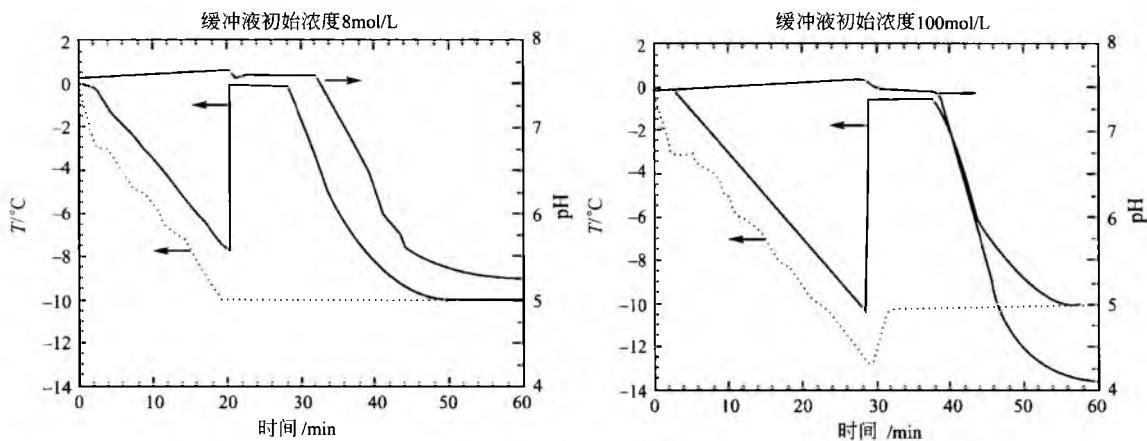


图4 磷酸钠缓冲液在远离平衡时冷冻过程中初始缓冲液浓度对 pH 的影响。25℃ 时初始 pH 为 7.4, 初始缓冲液浓度为 8mmol/L 和 100mmol/L, 溶液温度 (—), 水浴温度 (...) <sup>[17]</sup>

## 1. 晶核形成机制

成核机制可以分为两大类: 均一机制和表面-催化机制或界面-催化机制<sup>[7~9,18]</sup>, 如图 5 所示。均一成核很少在

大体积 (大于  $100\mu\text{L}$ ) 中发生, 因为溶液中含有偶然会诱发出核的杂质<sup>[19,20]</sup>。这种成核类型称为非均一成核。与结晶溶质的成分不同的表面或界面可以通过减少晶核形成的能量屏障而被作为成核底物, 使晶核可以长成成熟的晶

体。由结晶的溶质促进的成核现象称为二次成核。Mullin<sup>[7]</sup>、Myerson<sup>[9]</sup>和 Zettlemoyer<sup>[18]</sup>对这些机制做了透彻的讨论。

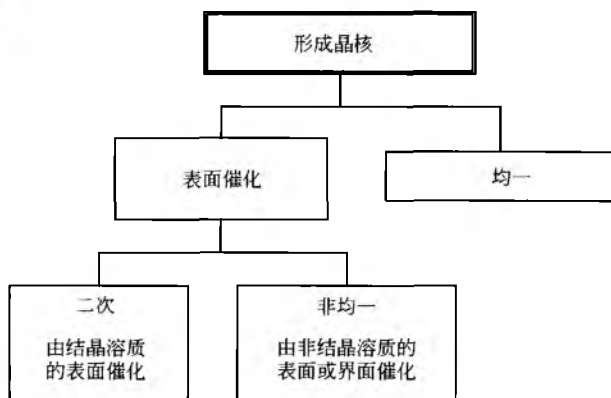


图5 晶核形成机制

## 2. 均一成核

晶核形成的热力学知识是以 Gibbs<sup>[21]</sup>、Volmer<sup>[22]</sup>和其他人的工作为基础。一个聚集体在经历相转变时的自由能变化  $\Delta G$  由下式给出：

$$\Delta G = \Delta G_v + \Delta G_s \quad (6)$$

式中： $\Delta G_s$  为与聚集体形成有关的表面自由能变化（正数）； $\Delta G_v$  为与相转变有关的体积自由能变化（负数）。对于均一成核或不均一成核，则有

$$\Delta G_v = -\alpha l^3 v k_B T \ln\left(\frac{c}{s}\right) \quad (7)$$

式中： $\alpha$  为体积-形状系数； $l$  为特征长度； $v$  为结晶溶质的摩尔体积； $k_B$  为 Boltzmann 常量； $T$  为温度。对于均一成核来说，则有

$$\Delta G_s = \beta l^2 \gamma_{12} \quad (8)$$

式中： $\beta$  为面积-形状系数； $\gamma_{12}$  为结晶介质 1 与核团 2 之间每单位面积的界面能。因此，大的过饱和比值 ( $c/s$ ) 和低界面能降低了晶核形成的总自由能变量。

控制成核的因素可以用从溶液中均一成核速度的公式来理解。均一成核速度公式如下：

$$J = N_0 v \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{k_B T}\right) = N_0 v \exp\left[\frac{-4\beta^3 v^2 \gamma_{12}^3}{27\alpha^2 (k_B T)^3 (\ln(cs)^2)}\right] \quad (9)$$

式中： $J$  为单位体积单位时间成核的数目； $N_0$  为单位体积内结晶相的分子数； $v$  为晶核-液体界面上原子或分子的转运频率； $\Delta G^*$  为在某一临界大小 ( $l^*$ ) 形成核团的 Gibbs 自由能变化的最大值。成核速度最初起源于蒸气中的冷凝<sup>[23]</sup>，其中前指数因子与气体动力学碰撞频率有关。从冷凝相中成核，频率因子与扩散过程有关<sup>[24]</sup>。 $l^*$  值可以通过把与特征长度相关的自由能函数最小化而得到，即

$$l^* = \frac{2\beta v \gamma_{12}}{3\alpha k_B T \ln\left(\frac{c}{s}\right)} \quad (10)$$

对于球形核团来说，按照核团的半径， $\alpha = 4\pi/3$ ， $\beta = 4\pi$ ，因此有

$$r^* = \frac{2v\gamma_{12}}{k_B T \ln\left(\frac{c}{s}\right)} \quad (11)$$

考虑到几何因素，球形核团的均一成核速率为

$$J = N_0 v \exp\left[\frac{-16\pi v^2 \gamma_{12}^3}{3 (k_B T)^3 \left(\ln\left(\frac{c}{s}\right)\right)^2}\right] \quad (12)$$

虽然成核的经典理论在推导上受到它内含的假设的限制（参考文献 [6] 中做了详细说明），但它成功预测了一个系统的成核行为<sup>[7~9, 18, 25]</sup>。查看前面提到的公式可以清楚地表明，成核速度可以由以下参数用实验来控制：分子或离子转运、黏度、过饱和度、溶解度、固-液界面张力及温度。

晶核形成动力学可以通过测定成核速率、诱导时间和亚稳定区宽度（自发成核所必需的过饱和或过冷却）作为起始过饱和度的函数并用实验得出<sup>[6~8, 26]</sup>。当其他变量都为常数时，成核速度会随着过饱和度的增加而增加。但当过饱和度为常数时，成核速率会随着溶解度的增加而增加。溶解度影响前指数因子和分子间碰撞的概率。此外，改变溶质或溶液的成分引起溶解度增加时，界面的能量减少，这是因为结晶介质与晶体之间的亲和力增大<sup>[6]</sup>。因此，自发成核所需要的过饱和度随溶解度的增加而减小<sup>[27]</sup>，如图 6 所示。

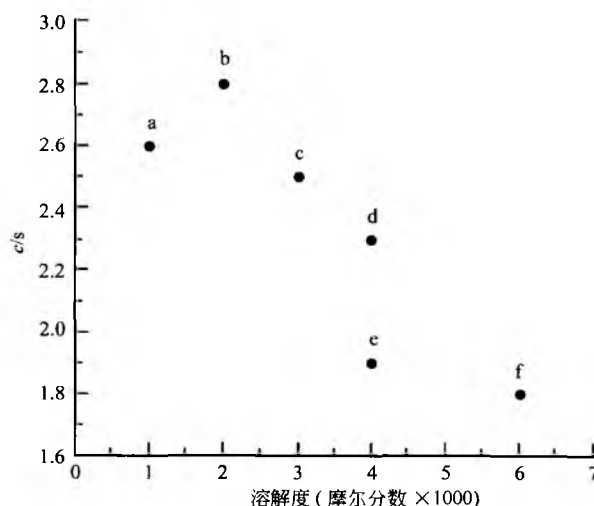


图6 成核的临界过饱和度与硝基咪唑啉因溶解度的关系。

(a) 甲酸；(b) 甲酸：水 (4:1)；(c) 甲酸：乙醇 (2:1)；(d) 甲酸：二氧化 (2:1)；(e) 甲酸：甲醇 (2:1)；(f) 甲酸：水 (2:1)<sup>[27]</sup>

成核速度对溶解度的依赖也符合 Ostwald 阶段定律<sup>[28]</sup>关于亚稳定固相的优先形成。该定律如下：“当体系离开一个不稳定状态时，它不会寻求最稳定状态，而是寻求失去自由能后就可以达到的最接近的亚稳定状态。”这意味着如果不稳定固态变形物（这个体系拥有最高溶解度）比热力

学校稳定的固相先沉淀,那么它必定有比溶解度较小的固相更大的成核速度和长大速度。然而, Ostwald 阶段定律不是普遍有效的,因为固相的出现和发展均由具体实验条件下成核及生长的动力学所决定<sup>[29~31]</sup>。

药文学文献中对抑制成核的原因说得很混淆,因为没有考虑到成核情况(成核速度、亚稳定区宽度或诱发时间)对过饱和度的依赖关系。在寻找抑制成核的添加物的研究中,经常测量诱发时间作为添加物浓度的函数,而忽略了成核时间对过饱和度的依赖关系。这些研究结果可能会导致错误的结论认为添加物可能抑制了成核。确实添加物降低了过饱和度并常常导致不饱和状态<sup>[32,33]</sup>的产生。因此,体系应该是处于热力学而非动力学的控制之下。

对成核机制和动力学影响很大的一个重要因素是成核发生的溶液体积。大体积液体分散成一群小液滴是证明达到高过饱和度或过冷却的有效方法<sup>[19,20]</sup>。在小体积(液滴)中沉淀和固化包括乳化已被用于研究均一成核过程<sup>[34]</sup>和纯度、颗粒大小及形态学<sup>[35,36]</sup>的控制。溶液分散成小体积后不均匀的晶核在一部分液滴内分离,使成核更加困难。因此,成核必须达到更高的过饱和度。可能形成的产物其界限可用以下情况表示:①高成核速度形成粒子很小的晶体(甚至在纳米范围内)<sup>[35,36]</sup>;②由于在实验时间范围内分子的低扩散速度抑制了核团生长成晶体从而形成玻璃状或无定形固体<sup>[37]</sup>。

表 1 在缓冲液的非平衡冷冻过程中磷酸氢二钠的结晶行为

观测结果	$c_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}^{1)}$ /mmol/L	参考文献
结晶开始减少	$\leq 200$	Murase 和 Franks <sup>[16,38]</sup>
不结晶	$\leq 10$	
结晶开始减少	$\leq 15$	Gomez <sup>[17]</sup>
结晶容易发生	$\geq 0.3$	
$c_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}^{2)} \leq 94\text{mmol/L}$ 不抑制结晶	6	
容易结晶	190	
$c_{\text{Na}_2\text{HPO}_4} \geq 730\text{mmol/L}$ 抑制结晶	190	Cavatur 和 Suryanarayanan <sup>[39]</sup>

1)  $c_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$  为 25℃ 时溶液中初始磷酸氢二钠浓度。

2)  $c_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$  为 25℃ 时溶液中初始磷酸二氢钠浓度。

起始组成相同的溶液可能会因杂质、形成过饱和的速度、加热情况、测定沉淀的实验技术以及成核的溶液体积的不同而产生不同的成核结果。这是通过比较不同实验室在冷冻过程中对缓冲液成分进行选择结晶得出的结果<sup>[16,17,38~39]</sup>。表 1 所示的是磷酸钠缓冲溶液在冷冻过程中最初盐浓度和磷酸氢二钠的结晶行为。Murase 等<sup>[16,38]</sup>报道了磷酸氢二钠的沉淀发生在比我们的实验室观察到的<sup>[17]</sup>更高的初始缓冲液浓度和磷酸氢二钠浓度。我们的研究结果是,初始缓冲液浓度低于 8mmol/L,对应的磷酸氢二钠浓

度为 0.3mmol/L 时盐沉淀减少,而 Murase 等报道的则是初始缓冲液浓度低于 500mmol/L,对应的磷酸氢二钠浓度为 200mmol/L 时盐沉淀开始减少,而且初始二钠盐浓度低于 10mmol/L 时磷酸氢二钠不沉淀,但是我们的研究表明在盐浓度低至 0.3mmol/L 时也发生沉淀。观察做这些研究的实验条件(表 2)可以说明,随着溶液体积从 25mL 减少到 3μL 和增加冷却到较低温度的冷却速度,结晶程度有降低(和更慢的结晶速度)的趋势。

表 2 测量磷酸钠在冷冻过程中结晶进程的试验条件和方法

参考文献	溶液的体 积/μL	冷却速度/ (℃/min)	温度/℃	方法
Murase 和 Franks <sup>[16,38]</sup>	2~5	0.62	-52	DSC, SEM
Gomez <sup>[17]</sup>	$25 \times 10^3$	0.3~0.5	-10	pH
Cavatur 和 Suryanarayanan <sup>[39]</sup>	300 <sup>1)</sup>	15	-40	XRPD

1) 个人交流。

利用加入非结晶添加物来控制沉淀时,如果忽视控制成核的因素会导致在建立指导原则时产生错误判断。例如,用浓度比(添加物比结晶溶质)表示添加物对成核的影响而忽略其他参数时会出现自相矛盾的解释。表 1 中的数据说明,在  $(\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}) \leq 4$  (0.73mol/L/0.19mol/L) 时,磷酸氢二钠的沉淀被抑制<sup>[39]</sup>,而在  $(\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}) \geq 16$  (0.094mol/L/0.006mol/L) 时沉淀未受到抑制而发生沉淀<sup>[17]</sup>。与我们研究的体系相比,Cavatur 和 Suryanarayanan<sup>[39]</sup>研究的缓冲液除了溶液体积较小和冷却到较低温度的冷却速度较快外,还有更高的磷酸二氢钠浓度(它增加了溶液的黏度)。

Turnbull 和 Fisher<sup>[24]</sup>说明了结晶介质的黏度对成核速度的影响。晶核-液体界面上原子或分子转运的频率  $\nu$ ,可能与介质的黏度  $\eta$  有关,用 Stoke-Einstein 关系式表示为

$$\nu \approx \frac{kT}{3\pi a_0^3 \eta (T)} \quad (13)$$

式中:  $a_0$  为扩散物的平均有效直径。如果用 Arrhenius 规则来表示黏度对温度的依赖关系,那么

$$J = \frac{K}{\eta_0} \exp\left(\frac{-\Delta G^* - \Delta G_a}{kT}\right) \quad (14)$$

式中:  $\Delta G_a$  为通过晶核-液体界面所需的活化能。因此,当过冷却或过饱和度的增加伴随着黏度的增加时,成核速度可能会达到一个最大值。这种现象已在柠檬酸于水溶液中形成晶核<sup>[40]</sup>和冰的结晶<sup>[41]</sup>过程中观测到。

### 3. 不均一成核

不均一成核过程在药物体系中具有基础和实用性,因为无意或有意增加表面或界面可以促进晶核的形成。晶体表面的反应活性,如不均一的晶核对所需的目标固态变形物的分离以及控制这些变形物之间的转化有重要的影响,因为合适的底物的存在能降低形成二维晶核所需要的

自由能。可用下面的等式定量地表示<sup>[42,43]</sup>为

$$\Delta G_s = \gamma_{12} A_{12} + (\gamma_{23} - \gamma_{13}) A_{23} \quad (15)$$

式中： $\gamma$ 为单位面积上相互作用的能量； $A$ 为界面的表面积；下标3代表底物。聚集物与底物之间具有促进作用的表面相互作用以及结晶介质与底物之间不利的相互作用会降低表面自由能的总变化量，这是由于等式(15)中等号的第二项为负值。因此，增加底物的表面积将促进成核作用。

结晶引晶技术在控制结晶产物的有效性方面依赖于促进不均一成核或二次成核的晶体表面势能<sup>[7,8]</sup>，同时要避免未知污染物引起的不均一的成核作用。Ward<sup>[44]</sup>对结构、性质和有机晶体表面活性的论述可推荐用于选择能促进成核的表面时的策略。许多研究<sup>[45~49]</sup>已经证明了底物形态、晶格参数、结晶对称性以及分子间的相互作用对表面定向成核作用的影响。

不均一成核的机理对亚稳定固相的溶解作用具有很重要的影响，因为这一类型的晶核形成可以在低驱动力下发生。选择比其他晶体变形物溶解度更大的亚稳定固相是为了获得更快的溶解速率，而表面介导的成核作用会危及更快的溶解速率和溶液中更高的浓度的实现。我们已经报道了<sup>[47]</sup>茶碱亚稳相的表面能促进稳定的一水合物晶体的成核作用。观察到的一水合物的晶纤在无水物表面的定向生长与b、c晶体轴之间紧密的晶格配合相一致<sup>[47]</sup>。其他关于亚稳态固体溶解作用的研究，如关于茶碱无水物<sup>[50]</sup>和卡马西平无水物<sup>[51~53]</sup>的研究，都表明稳态相的结晶发生在溶解过程中(图7)。不幸的是，考虑到成核机理对亚稳定固相溶解作用的重要影响，很少有研究用亚稳定变形物鉴别底物介导成核的可能性。从这种研究中得到的信息可以用于设计在溶解过程中或目标固体物的分离过程中调节结晶的方法。



图7 卡马西平二水合物在单晶卡马西平无水物晶体表面的成核和生长，于25℃十二烷基硫酸钠水溶液中(17.3mmol/L, 0.5%)， $c/s=1.15$ <sup>[136]</sup>

Carter和Ward<sup>[43]</sup>已经确定了一种表面介导的成核机理，其中包括底物突出部位的平面与成核前聚集体的平面之间几何状态的匹配。他们将这一想法运用到多晶型物的定向成核中<sup>[45,48]</sup>。这项工作提供了一个令人感兴趣的前景，即“大量有机晶种可用于控制多晶型现象，或者寻找未知的多晶型物”<sup>[44]</sup>。经验证明，建立在这一方法基础上的分子水平的解释比那些建立在溶剂选择性多晶型物结晶基础上的解释更容易被人理解。

#### 4. 实验策略和计算策略

成核现象有其分子水平上的起源，但是由于缺少检测分子水平现象的实验技术，成核现象经常是根据宏观特性来描述。不过，在过饱和体系中由拉曼光谱和激光散射所获得的有关分子缔合过程的信息在明确规定的实验条件下可用来鉴别成核前的晶簇和生长单元。由于成核前的晶簇比较大，所以测量晶簇大小分布的方法更适合用于研究大分子的结晶<sup>[54~58]</sup>，而拉曼光谱和荧光光谱技术能提供溶液结构或溶液中粒子种类的信息<sup>[59~63]</sup>。通过在分子水平上比较溶液和晶体结构，以及由宏观分析得到的信息与分子模拟方法得到的结果结合起来可以检测出结晶的途径<sup>[64~74]</sup>。

Gavezzotti<sup>[75~78]</sup>和Desiraju<sup>[79~81]</sup>描述了结晶工程策略，以理解结晶时分子的聚集过程并阐述有机晶体中超分子基序的图案。在该文献中，晶体被看成是由分子间相互作用而组合起来的固态大分子，主要探讨建立分子间相互作用与超分子结构之间的联系。Gavezzotti<sup>[78]</sup>最近的研究指出分子动力学计算如何模拟溶剂和动力学对分子聚集的影响。

超分子聚集过程是可以控制的，因此可以使溶液中的晶核的前体采纳类似于所需要的结晶变形物的结构<sup>[78,82,83]</sup>。这一概念曾用于成核抑制物的设计以阻止稳定的多晶型物的生长而促进亚稳定的多晶型物的生长<sup>[29,84,85]</sup>。Davey等<sup>[64]</sup>通过分析各种多晶型物结构中分子间的相互作用并把它们与存在于不同溶剂中的超分子聚集体相比较，解释了磺胺噻唑溶剂依赖性的多晶型物的出现。然而在这种情况下，多晶型物溶剂依赖性的选择性结晶与溶解度无关<sup>[64,86]</sup>。

### 晶体长大

当稳定的晶核(比临界晶簇稍大)形成后，它们生长成肉眼能看得到的晶体。这是结晶过程中的一部分，被称为晶体长大。该过程由成长单元(即结晶学的基础成分，“定位”在晶格空间上形成的晶体结构)开始，经过几个阶段，包括：①成长单元从或通过溶液转运到一撞击部位，这一部位不一定是最终的生长位点；②撞击位点吸附成长单元；③成长单元从撞击位点扩散到生长位点；④合并到晶格中。

成长单元的去溶剂化可发生在2~4步中的任何一步，或者溶剂被吸附在成长单元上。由于这些步骤中的任何一步都是晶体长大过程中的限速步骤，而且它们依赖于诸如过饱和度、温度、添加物或溶剂及体系的流体力学等条件，

所以晶体长大一般可分为两大主要机理：受体积-扩散控制或受表面-融合控制（图8）<sup>[6~9]</sup>。

分子从溶液向晶体表面扩散为限速步骤时，晶体长大受体积-扩散控制，而如果成长单元合并到晶格中是最慢的过程，则认为晶体长大是受表面-融合控制。许多有关结晶的研究报道说蛋白质、小有机电解质和非电解质其晶体长大都受表面-融合控制<sup>[71~73,87~94]</sup>。晶体表面的粗糙程度决定晶体长大是按连续（相对粗糙的表面）或分层（相对光滑的表面）的机理发生。

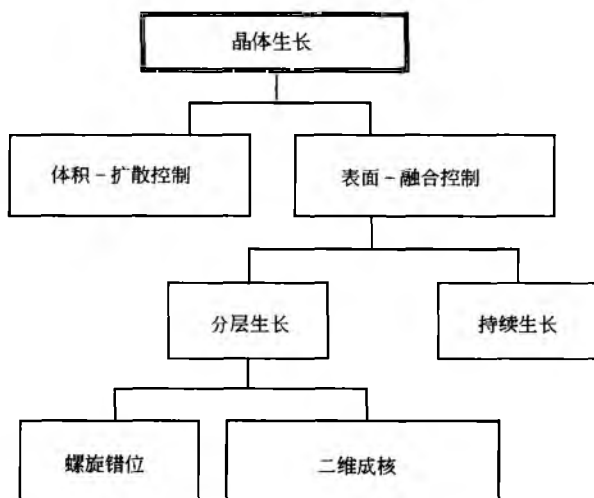


图8 晶体生长的机理

晶体长大按分层生长机理有两种不同途径解释其进程（即晶层）的形成：二维成核及螺旋错位。Volmer<sup>[95]</sup>和Stranski<sup>[96]</sup>建立了二维成核的模型。Burton等<sup>[BCF,97]</sup>首先描述了螺旋错位模型。有关这些模型来历的细节在许多其他参考文献<sup>[7,9,98,99]</sup>中都做了总结。

当晶体表面的晶核作为成长单元进一步合并的源头时，发生二维成核。总之，这一机理说明了在高过饱和度时观察到的晶体生长的原因。螺旋错位机理说明了在低过饱和度时

晶体生长的原因。当饱和度低于二维晶核形成的阈值时，螺旋错位的存在提供了形成晶层的源头，这种晶层是由成长单元以等距和平行的方式无穷尽地连续地合并而形成的。

## 实验性策略

根据测量生长速度的目的和应用，生长速度可表示为如下形式：

- 总线性生长速度，即相当于体积的直径与时间的变化速度；
- 面的线性生长速度，即垂直于晶体面方向的晶体表面被取代的速度；
- 沿晶体表面扩展的速度、高度和生长的晶层之间的间距。

面的线性生长速度可以用晶层形成的速度、高度和间距来表示。晶体生长速度作为过饱和度的函数，其原位测定的技术包括如下几种：

- 用测量颗粒大小和数目的方法监测晶体总体<sup>[100,101]</sup>。
- 利用流通池系统用光学显微镜监测个别晶面上的生长速度<sup>[73,87~90]</sup>。
- 用原子力显微镜（AFM）<sup>[89,91~94]</sup>和干涉显微镜<sup>[71,72]</sup>在分子水平上监测表面形态学的发展。

虽然已经采用不同的数学模型，通过用不同的数学公式配合由实验测得的依赖于过饱和度的晶面生长速度来鉴别生长机理，但还是很难区别各种不同的机理<sup>[73,89,102]</sup>。这种方法经常与表面形态学的检查相结合来确定生长机理，如图9所示的人胰岛素晶体。监测晶体生长过程中表面形态学的变化和转运过程可以说明用光学显微镜监测生长速度时不能肯定的一些问题。例如，成长单元与暴露在表面上的具有不同晶体平面的添加物之间的相互作用，可以从二维晶核的形状和沿晶体学方向生长的晶层的动力学各向异性推断出来。这些技术已经成功地应用于鉴定小分子<sup>[71,72,89]</sup>和蛋白质<sup>[91~94,103]</sup>晶体生长机理及动力学。

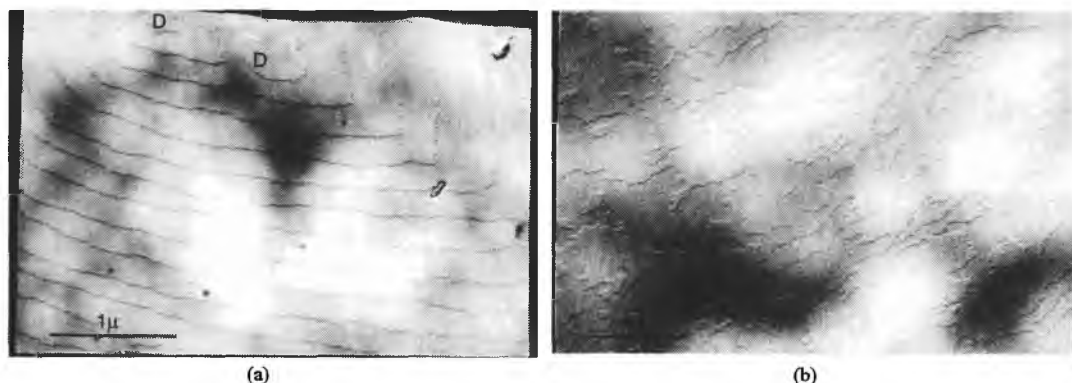


图9 人胰岛素结晶表面表明与过饱和度相关的不同机理引起的晶层。(a) 在低过饱和度时螺旋错位机理产生的晶层；(b) 在高过饱和度， $c/s > 10$ 时，由二维成核机理在岛边缘形成的晶层<sup>[136]</sup>

## J

## 晶体形态学

晶体生长受内、外因素的控制。内因,如三维晶体结构和晶格缺陷会决定晶体表面与溶液之间的分子间相互作用的性质和强度;外因,如温度、过饱和度、溶剂及杂质的存在,都会影响固-液界面相互作用的类型。晶体的外部形状或形态学与晶面生长的相对速度有关,并且晶面生长越慢对晶体形态学的影响越大。检查结晶的形态学可以揭示生长过程中在晶面-液体的界面上发生的分子作用。因此,尽管形态学在质量控制上并不发挥重要作用,但研究它对理解结晶动力学是很必要的<sup>[104]</sup>。

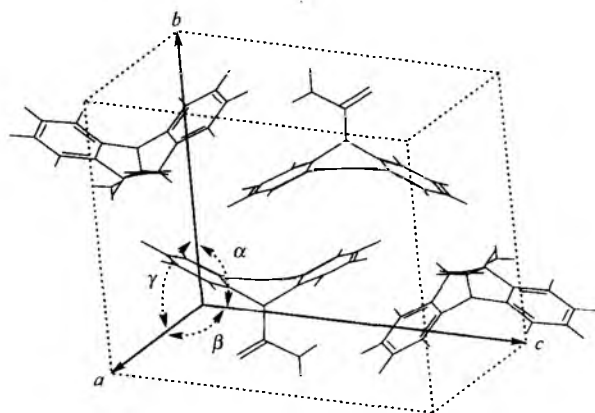
## 1. 晶体结构及命名

晶体是由长距离的,按三维循环次序排列的原子组成的。这些原子通过分子内共价键和离子键以及分子间非共价键连接在一起。就是这种长距离顺序把结晶固体与玻璃状或无定形固体区分开来。这种无定形固体只具有短距离的循环次序排列的原子。当一个化学实体存在一种以上的结晶状态时——多晶型物或溶剂化物——每一种晶型都有不同的三维结构的原子排列。因此,除了具有不同的物理和化学性质外,每一种晶型都有它独特的晶体结构。

从纯粹的几何角度考虑晶体(忽略原子的确切排列),每一个晶体都可以用最小的重复的三维单元(被称为晶胞)来表示。晶胞是一种平行六面体,它自身可以用六个几何量来测定,即三个轴(用 $a$ 、 $b$ 、 $c$ 表示)及轴间角(用 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 表示),称为晶格参数。六个晶格参数之间的关系可以确定某一晶体属于七个独特的晶系中的哪一种(表3)。然而晶系描述了晶胞的几何排列,空间群描述了晶胞内实际原子的个别的转变及对称关系。晶格参数、晶系、空间群和个别原子的坐标结合起来可以规定结晶固体内存在的独特的晶体结构。药物卡马西平无水多晶型物的晶胞(及晶格参数)和原子坐标,如图10所示。这种多晶型物属于单斜晶体系及 $P2_1/n$ 空间群<sup>[105]</sup>。

表3 晶系和晶格参数

系统	晶格参数间的关系
立方晶	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
正方晶	$a=b\neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
斜方晶	$a\neq b\neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
菱形(或三角晶)	$a\neq b\neq c$ $\alpha=\beta=\gamma\neq 90^\circ$
六方晶	$a=b\neq c$ $\alpha=\beta=90^\circ, \gamma=120^\circ$
单斜晶	$a\neq b\neq c$ $\alpha=\gamma=90^\circ, \beta\neq 90^\circ$
三斜晶	$a\neq b\neq c$ $\alpha\neq\beta\neq\gamma\neq 90^\circ$

图10 无水单斜晶卡马西平的晶胞, 晶格参数标为“ $a$ ”、“ $b$ ”、“ $c$ ”、“ $\alpha$ ”、“ $\beta$ ”和“ $\gamma$ ”<sup>[105]</sup>

Miller 指数协议被用来描述晶胞内的晶面。Miller 指数规定了晶面与三个晶体轴中的每一个晶轴相交的截距的倒数。每一个晶面用三个参数 $h$ 、 $k$ 、 $l$ 表示。与晶轴平行的晶面 Miller 指数为0,而反向形成的晶面在 Miller 指数上加一横线。某一特定的晶面的 Miller 指数用圆括号表示 $(hkl)$ ,而描述晶面整体的 Miller 指数用大括号表示 $\{hkl\}$ 。实在的且能给晶体下定义的晶面在形态学上很重要,并且通常用阐述那些晶面的晶面 Miller 指数来进行鉴定。

表示晶体结构的命名的应用可以减少文献中存在的描述不同多晶型物或溶剂化物时的许多混乱。虽然采用术语如“Ⅰ型和Ⅱ型”或“ $\alpha$ 型对 $\beta$ 型”很方便,但是当不同观察者用不一致的或在某些情况下用矛盾的术语来描述同一多晶型物时会引起混乱。例如,卡马西平已知存在至少三种无水物和两种溶剂化物(二水合物和丙酮溶剂化物)。在描述三种无水物时使用了交叉的或矛盾的命名,引起了许多混乱(表4)<sup>[106~115]</sup>。因此,从晶体学信息产生的术语(这种情况下,晶系)将会比通常所用的术语更有意义且不易混淆。

表4 无水卡马西平多晶型物

	CBZ (AM)	CBZ (ATrg)	CBZ (ATrc)	文献
晶系	单斜晶	三角晶	三斜晶	
熔点	175~180℃	192~194℃	192~195℃	
命名	Ⅲ		Ⅰ	[106]~[109]
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	[110]~[112]
	$\beta$	$\alpha$		[113]
	单斜晶	三角晶		[114]
			三斜晶	[115]

## 2. 药物加工中晶体形态学的作用

晶体形态学的知识以及药物和赋形剂形态的控制和预测方法,已经证明对加工和产品开发有重要意义。关于粉末的固态性质,York 讨论了晶型的改变如何影响几种处方参数,如颗粒大小的分布、粉末流动性、混合性(成块)、

溶解性、压缩性及片剂硬度<sup>[116]</sup>。晶型也能影响混悬剂的流变性和过滤。除此之外,某一晶体的特性可能会导致剂量均匀性不合格或药物释放不稳定,如颗粒大小对药物释放非常关键的气雾剂就是属于这一情况<sup>[117~119]</sup>。也应强调晶体形态并不单独影响活性成分,因为赋形剂经常占处方中的很大比例,每一种成分的晶体形态都可能对先前描述的性质有重要影响。

在制剂的加工或运输过程中,经常形成过饱和状态,这能导致药物或赋形剂的结晶。因此,药物和赋形剂之间的相互作用(或赋形剂-赋形剂之间的相互作用)会对晶型有极大影响。从最严格的意义上讲,赋形剂对活性成分来说是一种杂质(反之亦然),可能会导致晶型的改变,从而对药物加工和(或)运输造成不良影响。

长久以来,认为添加物(有意)或杂质(无意)的存在对结晶有巨大影响(晶核形成和生长<sup>[7,9]</sup>)。如果添加物(或杂质)选择性地吸附在晶体的晶面上,这些晶面的生长速度将会改变从而引起晶型的改变。例如,牛磺胆酸钠(STC)与卡马西平二水合物[CBZ(D)]的{111}晶面相互作用减少了沿针轴方向长大的速度,导致更多的斜方晶产生(图11)<sup>[53,120]</sup>。显微照片显示,STC对CBZ(D)晶型的影响如图12所示。Lechuga-Ballesteros和Rodríguez-Hernández指出疏水L-氨基酸的吸附是如何抑制L-丙氨酸{012}晶面的生长速度,从而引起晶型的改变<sup>[89,90,101,121]</sup>。结构相似的添加物的存在也明显改变了扑热息痛的晶型<sup>[70]</sup>。最近有很多研究工作探索能与晶面选择性相互作用的添加物,从而能“按需剪裁”晶体形态使之具有更有利的特性<sup>[122]</sup>。

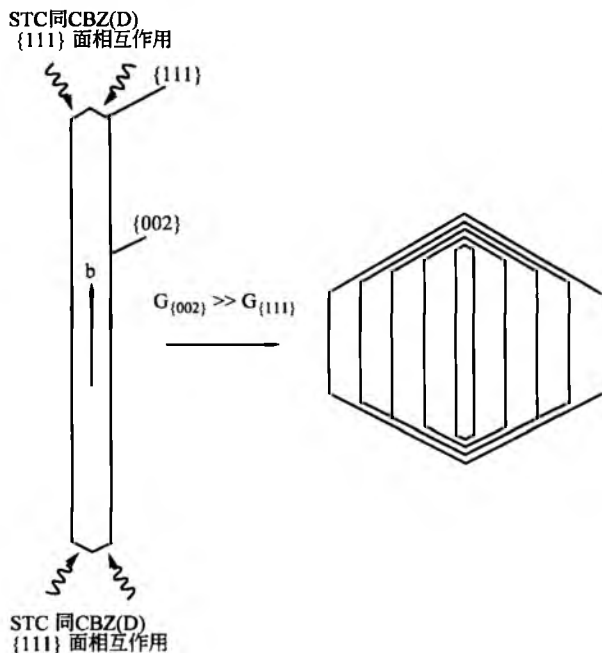


图11 牛磺胆酸钠(STC)对卡马西平二水合物[CBZ(D)]晶型的影响的二维示意图。STC独特地与CBZ(D)的{111}面相互作用,从而抑制了这些晶面的生长,晶型从针形变为棱形

通过目测来检查形态的变化在解决麻烦的处方问题可能是一种有力工具。不同形态晶体的出现提示加工条件有变化,如过饱和程度、加热或冷却速度以及有(或没有)杂质。形态变化也可能首先提示有新晶型(多晶型物或溶剂化物)出现。当首先观察到有形态变化后,鉴定技术,如X射线粉末衍射、热分析或光谱学,都可用来鉴定新晶型的外观。

### 3. 形态预测及其他计算策略

为了预测晶体形态,已经建立了一些模型。预测晶型的最早的模型之一是基于Bravais定律<sup>[123]</sup>,该定律认为形态学上最重要的晶面具有最大的晶面间的距离( $d_{hkl}$ )。Bravais-Friedel Donnay-Harker (BFDH)模型预言,晶面的形态学重要性与晶体空间群的消光条件和重复转化方法间隔校正后的晶面之间的间距成比例<sup>[123~125]</sup>。因此,任一给定的晶面的生长速度与其晶面的间距成反比,即

$$G_{hkl} \propto \frac{1}{d_{hkl}} \quad (16)$$

式中: $G_{hkl}$ 为表面的生长速度; $d_{hkl}$ 为晶面间的间距。这一模型已被用来预测许多小分子,包括具有药用意义的化合物的形态学<sup>[3,73,120,126,127]</sup>。观察到的[图13(a)]和预测的卡马西平二水合物晶型[图13(b)]表明BFDH模型正确地预言了延长的轴及{002}晶面、{200}晶面和{111}晶面的外貌。但是,这一模型没能正确预测晶体的纵横比,因为它仅仅是以几何参数为基础。它既没有考虑分子间的相互作用也没有考虑各向异性力的作用,如分子间氢键或 $\pi-\pi$ 的相互作用。

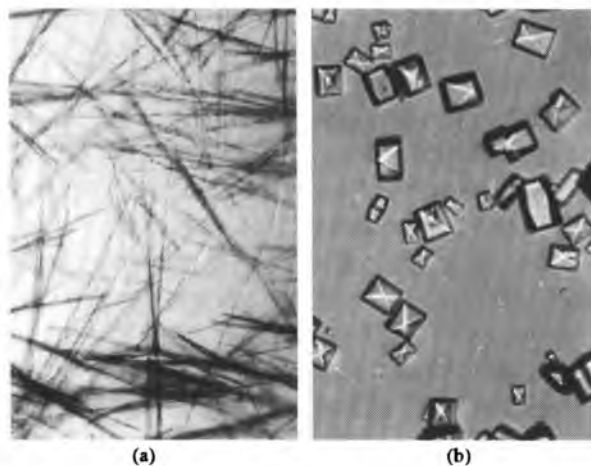


图12 水溶液中生长的CBZ(D)晶体(25°C,  $c/s=2.5$ )。  
(a) 不存在表面活性剂; (b) 存在9mmol/L STC<sup>[53]</sup>

Hartman和Perdok的早期研究<sup>[128]</sup>根据邻近的结晶单元之间形成的牢固的键来描述晶体的生长。这些键形成的不中断的直链称为循环键链(PBC)。这一理论按照一个层面厚度( $d_{hkl}$ )中PBC的数目把晶面分为三种类型:F面(扁平的)、S面(阶梯的)、K面(扭结的)。K面的层面中不存在PBC,生长最快,而F面有两个或更多的PBCs,



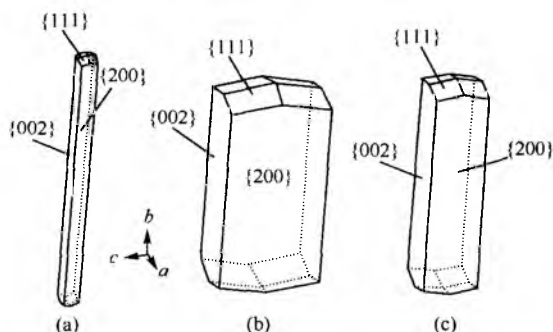


图 13 卡马西平二水合物晶型。(a) 观测到的水中生长的晶型；(b) BFDH 模型预测的晶型；(c) AE 模型预测的晶型<sup>[53]</sup>

生长最慢。因此，F 面是形态学上最重要的晶面。PBC 理论最终还导致连接能（AE）模型的建立<sup>[122,129]</sup>，这个模型指出晶面的生长速度（ $G_{hkl}$ ）与连接能（ $E_{att}$ ）成正比，即

$$G_{hkl} \propto E_{att} \quad (17)$$

其中连接能定义为当生长层（ $d_{hkl}$ ）在晶体表面结晶时释放的能量。连接能可以由结晶能（或晶格能）和生长层能量的差计算出来，如式（18）所示

$$E_{att} = E_{crystall} - E_{slice} \quad (18)$$

结晶能的值可以由晶体内中心参考分子和所有其他分子之间的相互作用力的求和计算出来。同样，生长层能可由该特定层面中所有的分子之间的相互作用力计算出来。

AE 方法已成功地用来预测许多分子的晶体形态学，尤其是那些受强大的各向异性力控制的分子<sup>[3,73,120,126,127]</sup>。例如，卡马西平二水合物，它受分子间氢键控制（尤其沿 b 轴方向），这一模型预测出的晶型非常接近于观察到的晶型[图 13 (c)]<sup>[53]</sup>。虽然这种方法的根据是各向异性力，但对它们的预测更依赖于选择用来计算非键分子间相互作用的力场。对于所涉及的分子来说，选择适当的力场必须非常小心。Lifson 和他的同事<sup>[30]</sup>开展的力场被用于 AE 方法来预测卡马西平二水合物<sup>[53]</sup>，他们明确地把 C、H、N 和 O 等原子参数化。

基于 AE 方法的晶型预测也假设晶体在真空中生长，即没有溶剂存在。因此，用这种方法忽略了溶剂对晶型的影响。Roberts 等建立了一种方法，该方法算出经过改变的连接能，用于预测溶剂和其他添加物对晶型的影响<sup>[131]</sup>。

利用晶体结构、形态学和分子间存在的相互作用的知识，合理地选择添加物的策略已得到发展，它们能专一性地抑制稳定的多晶型物的生长而促进亚稳定的多晶型物的生长<sup>[29,64,65,74,84~85,132~134]</sup>。这些策略也用于为了帮助产品开发和输送而希望改变晶型的体系（例如，当结晶生长时希望优先形成针状结晶而创造一个棱形晶癖）。这些策略的主要特点如下：

- (1) 识别稳定的晶体修饰物生长最快的晶面（根据实验数据和形态学进行预测）。
- (2) 描绘沿结晶学方向生长最快的分子间的相互作用。
- (3) 选择能沿这一方向与晶体结构接合（或吸附）的添加物。

(4) 建立实验方法考察能在动力学上稳定亚稳定态的修饰物的添加物的效果。

添加物的选择可以用基于几何契合的晶体结构的分子形象<sup>[29,90]</sup>或键合能的计算<sup>[70,120,135]</sup>作为指导。

## 溶液介导的转变

亚稳定的固相常有溶解于液相的倾向，而稳定的固相则在液相中成核并生长，这种情况对药物开发的许多阶段都是至关重要的。这是因为从开发的早期阶段开始（从溶液中结晶分离）及在加工过程中（湿法制粒、喷雾干燥、冷冻干燥等），药物固体均被设计成能溶解且能与溶剂接触。如果一个结晶修饰物突然消失或出现会影响工艺的开发，那么对动力学和溶剂介导的转变机制的描绘就会有很重要的实际意义。它可以为如下问题提供答案：加工条件与所生产的固态修饰物之间有什么关系？溶解条件、固相溶解和药物溶解后的浓度三者间是否相关？

一些研究者<sup>[29~31,47,64,133,136~138]</sup>强调了相转变动力学、分子水平的解释以及相关的工艺的重要性。Cardew 和 Davey<sup>[30]</sup>建立了一种理论框架，他们以一个相的溶解动力学和第二个相的生长方式来研究溶剂介导的转变。模型表示的是相转变过程中与稳定相或溶液中溶质的浓度及固相成分有关的过饱和度与时间的关系。这一实验方法包含饱和与亚稳相有关的溶液，以及在亚稳相存在下及恒定的外界条件下监控溶液浓度和固相成分。从浓度或过饱和度-时间曲线图中得到的信息比从固相组成-时间曲线图中得到的信息更有用，因为前者与调节转变速度的驱动力有关，并可用来识别速度-控制过程：溶解或生长。图 14 所示在溶解和生长与过饱和度呈线性关系<sup>[30,31]</sup>的情况下，用生长-限制方案和溶解-限制方案计算过饱和度和曲线。有机晶体相变的实验研究表明，这一模型可用于解释多晶型物和溶剂的溶液介导的相转变动力学<sup>[30,31,138]</sup>及工艺过程开发<sup>[138]</sup>。表 5 概括了用于研究大规模结晶和溶液介导的相转变的一些有用的实验技术。

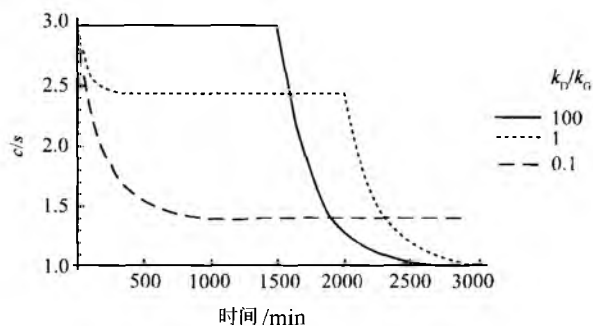


图 14 在溶液介导的相转变过程中，过饱和度-时间曲线作为结晶和溶解的相对速度的函数的模拟图，由 Gardew 和 Davey<sup>[30]</sup>建立的动力学模型得出，假定溶解和生长速度均与各自的驱动力呈线性关系<sup>[136]</sup>



表5 不同试验技术提供的结晶动力学和机制信息

技术	信息
光学显微镜检查法 (倒置显微镜)	原位研究结晶过程 监测混悬液的转变 测定转变时间 筛选和鉴别添加剂/溶剂与特定晶面相互作用的特征 鉴别成核机制 测定晶体生长速度
电子显微镜检查法	鉴别添加剂/溶剂与特定晶面相互作用的特征 鉴别成核和生长机制
原子能显微镜检查法	原位研究结晶过程
干涉显微镜检查法	检查表面结构 鉴别成核和生长机制 测定晶体生长速度
拉曼光谱显微镜检查法	监测指导成核和晶体生长的分子缔合过程
红外 (FT-IR、NIR) 光谱法, 固态核磁共振分光术	监测结构 (多晶型物和溶剂化物)、构象和晶体的分子间环境
分光光度法, 色谱仪	监测溶液中溶质的浓度和过饱和度
衍射, 热量法, 光谱法	监测固相成分

## 总结

本章中, 我们讨论了结晶机理及其动力学在指导结晶途径方面的重要性, 也列举了许多例子证明控制结晶过程 (成核和长大) 在制药工业中的重要性。计算机和分析技术的进步使我们能够研究指导成核和晶体生长的分子行为。因此, 即使已经获得目标产物, 也没有理由采用不明确的结晶过程。理解体系的热力学及动力学行为对设计可靠的工艺来说是很重要的, 因此至少鉴别相应的实验参数的整体方法是必要的。虽然处方和工艺开发的目的不一定要明确地包括分子水平的说明, 但在工艺中出现的掩藏在相交处进行的相互作用的信息、溶液的结构以及得到的固体对鉴别成核及生长机理来说可能很重要。然而可能在有些场合, 如由于不好的处方的特性, 无意中分离到一种新的晶体结构或形态, 在这种情况下分子水平的认识能证明对解决处方或工艺问题是非常宝贵的。虽然结晶机制及其动力学的重要性在制药工业中已被低估, 但我们希望最近计算机和分析技术的发展会引起将这些技术在制药体系中应用的兴趣。

## 参考文献

- Dunitz, J. D.; Bernstein, J. Disappearing Polymorphs. *Acc. Chem. Res.* 1995, 28 (4), 193–200.
- Abbott Laboratories. Letter to Health Care Providers <http://www.fda.gov/medwatch/safety/1998/norvir.htm> (accessed Mar 2000).
- Nichols, G.; Frampton, C. S. Physicochemical Characterization of the Orthorhombic Polymorph of Paracetamol Crystallized from Solution. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 684–692.
- Haisa, M.; Kashino, S.; Maeda, H. The Orthorhombic Form of P-Hydroxyacetanilide. *Acta. Crystallogr.* 1974, B30, 2510–2512.
- Food and Drug Administration. Guideline for Submitting Supporting Documentation in Drug Applications for the Manufacture of Drug Substances; FDA Center for Drug Evaluation and Research; Office of Drug Evaluation; Rockville, Maryland, 87.
- Nyvt, J.; Söhnel, O.; Matuchová, M.; Broul, M. The Kinetics of Industrial Crystallization; Elsevier: New York, 1985.
- Mullin, J. W. Crystallization; Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, 1993.
- Söhnel, O.; Garside, J. Precipitation; Basic Principles and Industrial Applications; Butterworth-Heinemann Ltd.; Oxford, 1992.
- Myerson, A. S. Handbook of Industrial Crystallization; Butterworth-Heinemann Ltd.; Oxford, 1993.
- Mersmann, A. Crystallization Technology Handbook; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1995.
- Van den Berg, L. The Effect of Addition of Sodium and Potassium Chloride to the Reciprocal System;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{H}_2\text{O}$  on pH and Composition during Freezing. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959, 84, 305–315.
- Van den Berg, L. PH Changes in Buffers and Foods During Freezing and Subsequent Storage. *Cryobiology*, 1966, 3, 236–242.
- Larsen, S. S. Studies on Stability of Drugs in Frozen Systems VI: The Effect of Freezing upon PH for Buffered Aqueous Solutions. *Arch. Pharm. Chem. Sci. Ed.* 1973, 1, 41–53.
- MacKenzie, A. P. Non-equilibrium Freezing Behaviour of Aqueous Systems. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B.* 1977, 278, 167–189.
- Taylor, M. J. Physico-Chemical Principles in Low Temperature Biology. The Effects of Low Temperatures on Biological Systems; Grout, B. W. W., Morris, G. J., Eds.; E. Arnold: London, 1987; 1–71.
- Murase, N.; Franks, F. Salt Precipitation during the Freeze-Concentration of Phosphate Buffer Solutions. *Biophys. Chem.* 1989, 34 (3), 293–300.
- Gomez, G. Crystallization-related pH Changes during Freezing of Sodium Phosphate Buffer Solutions; University of Michigan: Ann Arbor, MI, 1995.
- Zettlemoyer, A. C. Nucleation; Marcel Dekker, Inc.:

- New York, 1969.
19. Perepezko, J. H. Nucleation Reactions in Undercooled Liquids. *Materials Science and Engineering A-Structural Materials Properties Microstructure and Processing*. 1994, 178 (1-2), 105-111.
20. Perepezko, J. H. Kinetic Processes in Undercooled Melts. *Materials Science and Engineering A-Structural Materials Properties Microstructure and Processing*. 1977, 226, 374-382.
21. Gibbs, J. W. *Collected Works; Vol. I. Thermodynamics*. Yale University Press; New Haven, 1948.
22. Volmer, M. *Kinetik Der Phasenbildung*; Steinkopff, Leipzig, 1939.
23. Becker, R.; Döring, W. Kinetische Behandlung Der Keimbildung in Übersättigten Dämpfen. *Annalen Der Physik* 1935, 24, 719-752.
24. Turnbull, D.; Fisher, J. C. Rate of Nucleation in Condensed Systems. *J. Chem. Phys.* 1949, 17, 71-3.
25. Boistelle, R.; Astier, J. P. Crystallization Mechanisms in Solution. *J. Cryst. Growth* 1988, 90, 14-30.
26. Hendriksen, B. A.; Grant, D. J. W. The Effect of Structurally Related Substances on the Nucleation Kinetics of Paracetamol (Acetaminophen). *J. Cryst. Growth* 1995, 156, 252-260.
27. Garti, N.; Tibika, F. Habit Modifications of Nitrofurantoin Crystallized from Formic Acid Mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1980, 6, 379-398.
28. Ostwald, W. Studien Über Die Bildung Und Umwandlung Fester Körper. *Zeitschrift Für Physikalische Chemie* 1897, 22, 289-330.
29. Davey, R. J.; Blagden, N.; Potts, G. D.; Docherty, R. Polymorphism in Molecular Crystals: Stabilization of a Metastable Form by Conformational Mimicry. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119 (7), 1767-1772.
30. Cardew, P. T.; Davey, R. J. The Kinetics of Solvent-Mediated Phase Transformations. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. A* 1985, 398, 415-428.
31. Davey, R. J.; Cardew, P. T.; Mcewan, D.; Sadler, D. E. Rate Controlling Processes in Solvent-Mediated Phase Transformations. *J. Cryst. Growth* 1986, 79, 648-653.
32. Pellett, M. A.; Castellano, S.; Hadgraft, J.; Davis, A. F. The Penetration of Supersaturated Solutions of Piroxicam Across Silicone Membranes and Human Skin In Vitro. *J. Controlled Release* 1997, 46 (3), 205-214.
33. Katzhendler, I.; Azoury, R.; Friedman, M. Crystalline Properties of Carbamazepine in Sustained Release Hydrophilic Matrix Tablets Based on Hydroxypropylmethylcellulose. *J. Controlled Release* 1998, 54 (1), 69-85.
34. Davey, R. J.; Hilton, A. M.; Garside, J. Crystallization from Oil in Water Emulsions: Particle Synthesis and Purification of Molecular Materials. *Chem. Eng. Res. Des.* 1997, 75 (A2), 245-251.
35. Davey, R. J.; Garside, J.; Hilton, A. M.; Mcewan, D.; Morrison, J. W. Purification of Molecular Mixtures below the Eutectic by Emulsion Crystallization. *Nature* 1995, 375 (6533), 664-666.
36. Davey, R. J.; Garside, J.; Hilton, A. M.; Mcewan, D.; Morrison, J. W. Emulsion Solidification of Meta-Chloronitrobenzene: Purification and Crystallisation. *J. Cryst. Growth* 1996, 166 (1-4), 971-975.
37. Turnbull, D. Under what Conditions can a Glass be Formed? *Contemp. Phys.* 1969, 10, 473-488.
38. Murase, N.; Echlin, P.; Franks, F. The Structural States of Freeze-Concentrated and Freeze-Dried Phosphates Studied by Scanning Electron-Microscopy and Differential Scanning Calorimetry. *Cryobiology* 1991, 28 (4), 364-375.
39. Cavatur, R. K.; Suryanarayanan, R. Characterization of Frozen Aqueous Solutions by Low Temperature X-ray Powder Diffractometry. *Pharm. Res.* 1998, 15 (2), 194-199.
40. Mullin, J. W.; Leci, C. L. Some Nucleation Characteristics of Aqueous Citric Acid Solutions. *J. Cryst. Growth* 1969, 5, 75-76.
41. Franks, F.; Mathias, S. F.; Trafford, K. The Nucleation of Ice in Undercooled Water and Aqueous Polymer Solutions. *Colloids Surf.* 1984, 11, 275-285.
42. Fletcher, N. H. Nucleation by Crystalline Particles. *J. Chem. Phys.* 1963, 38, 237.
43. Carter, P. W.; Ward, M. D. Topographically Directed Nucleation of Organic-Crystals on Molecular Single-Crystal Substrates. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115 (24), 11521-11535.
44. Ward, M. D. Organic Crystal Surfaces: Structure, Properties and Reactivity. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 1997, 2 (1), 51-64.
45. Carter, P. W.; Ward, M. D. Directing Polymorph Selectivity During Nucleation of Anthranilic Acid on Molecular Substrates. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116 (2), 769-770.
46. Black, S. N.; Bromley, L. A.; Cottier, D.; Davey, R. J.; Dobbs, B.; Rout, J. E. Interactions at the Organic Inorganic Interface—Binding Motifs for Phosphonates at the Surface of Barite Crystals. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1991, 87 (20), 3409-3414.
47. Rodríguez-Hornedo, N.; Lechuga-Ballesteros, D.; Wu, H. J. Phase Transition and Heterogeneous Epitaxial Nu-

- cleation of Hydrated and Anhydrous Theophylline Crystals. *Int. J. Pharm.* 1992, 85 (1-3), 149-162.
48. Bonafede, S. J.; Ward, M. D. Selective Nucleation and Growth of an Organic Polymorph by Ledge-Directed Epitaxy on a Molecular-Crystal Substrate. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117 (30), 7853-7861.
49. Davey, R. J.; Maginn, S. J.; Andrews, S. J.; Black, S. N.; Buckley, A. M.; Cottier, D.; Dempsey, P.; Plowman, R.; Rout, J. E.; Stanley, D. R.; Taylor, A. Morphology and Polymorphism in Molecular Crystals-Terephthalic Acid. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1994, 90 (7), 1003-1009.
50. De Smidt, J. G.; Fokkens, J. G.; Grijseels, H.; Crommelin, D. A. J. Dissolution of Theophylline Monohydrate and Anhydrous Theophylline in Buffer Solutions. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75, 497-501.
51. Luhtala, S.; Kahela, P.; Kristoffersson, E. Effect of Benzalkonium Chloride on Crystal Growth and Aqueous Solubility of Carbamazepine. *Acta Pharmaceutica Fennica* 1990, 99, 59-68.
52. Luhtala, S. Effect of Sodium Lauryl Sulfate and Polysorbate 80 on Crystal Growth and Aqueous Solubility of Carbamazepine. *Acta Pharm. Nord.* 1992, 4, 85-90.
53. Murphy, D. The Solvent-Mediated Phase Transformation of Carbamazepine and the Influence of Surfactants on the Nucleation Mechanism and Crystal Morphology; University of Michigan; Ann Arbor, MI, 1997.
54. Kadima, W.; McPherson, A.; Dunn, M. F.; Jurnak, F. Precrystallization Aggregation of Insulin by Dynamic Light-Scattering and Comparison With Canavalin. *J. Cryst. Growth* 1991, 110 (1-2), 188-194.
55. Georgalis, Y.; Umbach, P.; Raptis, J.; Saenger, W. Lysozyme Aggregation Studied by Light Scattering 2. Variations of Protein Concentration. *Acta Crystallogr. Sect. D-Biological Crystallography* 1997, 53, 703-712.
56. Georgalis, Y.; Umbach, P.; Zielenkiewicz, A.; Utzig, E.; Zielenkiewicz, W.; Zielenkiewicz, P.; Saenger, W. Microcalorimetric and Small Angle Light Scattering Studies on Nucleating Lysozyme Solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119 (49), 11959-11965.
57. Peters, R.; Georgalis, Y.; Saenger, W. Accessing Lysozyme Nucleation with a Novel Dynamic Light Scattering Detector. *Acta Crystallogr. Sect. D-Biological Crystallography* 1998, 54, 873-877.
58. Rosenberger, F.; Vekilov, P. G.; Muschol, M.; Thomas, B. R. Nucleation and Crystallization of Globular Proteins-What we Know and What is Missing. *J. Cryst. Growth* 1996, 168 (1-4), 1-27.
59. Cerreta, M. K.; Berglund, K. A. The Structure of Aqueous Solutions of Some Dihydrogen Ortho-Phosphates by Laser Raman-Spectroscopy. *J. Cryst. Growth* 1987, 84 (4), 577-588.
60. Yedur, S. K.; Berglund, K. A. Use of Fluorescence Spectroscopy in Concentration and Supersaturation Measurements in Citric Acid Solutions. *Appl. Spectrosc.* 1996, 50 (7), 866-870.
61. Rasimas, J. P.; Berglund, K. A.; Blanchard, G. J. Measuring Self Assembly in Solution; Incorporation and Dynamics of a "Tailor-Made Impurity" In Precrystalline Glucose Aggregates. *J. Phys. Chem.* 1996, 100 (42), 17034-17040.
62. Rasimas, J. P.; Berglund, K. A.; Blanchard, J. G. A Molecular Lock and Key Approach to Detecting Solution Phase Self Assembly. A Fluorescence and Absorption Study of Carminic Acid in Aqueous Glucose Solutions. *J. Phys. Chem.* 1996, 100 (17), 7220-7229.
63. Dunuwila, D. D.; Berglund, K. A. ATR FTIR Spectroscopy for In Situ Measurement of Supersaturation. *J. Cryst. Growth* 1997, 179 (1-2), 185-193.
64. Blagden, N.; Davey, R. J.; Lieberman, H. F.; Williams, L.; Payne, R.; Roberts, R.; Rowe, R.; Docherty, R. Crystal Chemistry and Solvent Effects in Polymorphic Systems-Sulfathiazole. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1998, 94 (8), 1035-1044.
65. Weissbuch, I.; Popovitzbiro, R.; Lahav, M.; Leiserowitz, L. Understanding and Control of Nucleation, Growth, Habit, Dissolution and Structure of 2-Dimensional and 3-Dimensional Crystals Using Tailor-Made Auxiliaries. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* 1995, 51, 115-148.
66. Leiserowitz, L.; Addadi, L.; Lahav, M. Macroscopic Phenomena in Crystals and Molecular Shape. *J. Mol. Graphics* 1989, 7 (2), 95-5.
67. Weissbuch, I.; Addadi, L.; Lahav, M.; Leiserowitz, L. Molecular Recognition At Crystal Interfaces. *Science* 1991, 253 (5020), 637-645.
68. Gallagher, H. G.; Roberts, K. J.; Sherwood, J. N.; Smith, L. A. A Theoretical Examination of the Molecular Packing, Intermolecular Bonding and Crystal Morphology of 2, 4, 6-Trinitrotoluene in Relation to Polymorphic Structural Stability. *J. Mater. Chem.* 1997, 7 (2), 229-235.
69. Clydesdale, G.; Roberts, K. J.; Telfer, G. B.; Grant, W. D. J. Modeling the Crystal Morphology of Alpha-Lactose Monohydrate. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86 (1), 135-141.
70. Hendriksen, B. A.; Grant, D. J. W.; Meenan, P.; Green, A. D. Crystallisation of Paracetamol (Acetamin-

J

- ophen) in the Presence of Structurally Related Substances. *J. Cryst. Growth* 1998, 183 (4), 629—640.
71. Shekunov, B. Y.; Lahtam, R. Growth Anisotropy Of N-Methylurea Crystals in Methanol. *J. Phys. Chem. A* 1996, 100, 5464—5469.
72. Shekunov, B. Y.; Grant, D. J. W. In Situ Optical Interferometric Studies of the Growth and Dissolution Behavior of Paracetamol (Acetaminophen) . 1. Growth Kinetics. *J. Phys. Chem. B* 1997, 101 (20), 3973—3979.
73. Zipp, G. L.; Rodríguez-Hornedo, N. Growth Mechanism and Morphology of Phenytoin and their Relationship with Crystallographic Structure. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 1993, 26 (8B), B48—B55.
74. Khoshkhoo, S.; Anwar, J. Study of the Effect of Solvent on the Morphology of Crystals Using Molecular Simulation; Application to Alpha-Resorcinol And n-n-Octyl-D-Gluconamide. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1996, 92 (6), 1023—25.
75. Gavezzotti, A. Computer Simulations of Organic Solids and Their Liquid-State Precursors. *Faraday Discussions* 1997, 106, 63—77.
76. Gavezzotti, A.; Filippini, G. Polymorphic Forms of Organic Crystals at Room Conditions—Thermodynamic and Structural Implications. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117 (49), 12299—12305.
77. Gavezzotti, A.; Filippini, G. Computer Prediction of Organic Crystal Structures Using Partial X-ray Diffraction Data. *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118 (30), 7153—7157.
78. Gavezzotti, A.; Filippini, G. Self-organization of Small Organic Molecules in Liquids, Solutions and Crystals; Static And Dynamic Calculations. *Chem. Commun.* 1998, 3, 287—294.
79. Desiraju, G. R. Supramolecular Synthons in Crystal Engineering—A New Organic-Synthesis. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1995, 34 (21), 2311—2327.
80. Desiraju, G. R. Crystal Gazing; Structure Prediction and Polymorphism. *Science* 1997, 278 (5337), 404—405.
81. Desiraju, G. R. Designer Crystals; Intermolecular Interactions, Network Structures and Supramolecular Synthons. *Chemical Communications* 1997, 16, 1475—1482.
82. Boistelle, R.; López-Valero, I. Growth Units and Nucleation; The Case of Calcium Phosphates. *J. Cryst. Growth* 1990, 102, 609—617.
83. Gidalevitz, D.; Feidenhansl, R.; Matlis, S.; Smilgies, D. M.; Christensen, M. J.; Leiserowitz, L. Monitoring in Situ Growth and Dissolution of Molecular Crystals: Towards Determination of the Growth Units. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1997, 36 (9), 955—959.
84. Weissbuch, I.; Leiserowitz, L.; Lahav, M. Tailor - Made and Charge-Transfer Auxiliaries for the Control of the Crystal Polymorphism of Glycine. *Adv. Mater.* 1994, 6 (12), 952—956.
85. Weissbuch, I.; Zbaida, D.; Addadi, L.; Leiserowitz, L.; Lahav, M. Design of Polymeric Inhibitors for the Control of Crystal Polymorphism—Induced Enantiomeric Resolution of Racemic Histidine by Crystallization At 25°C . *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109 (6), 1869—1871.
86. Khoshkhoo, S.; Anwar, J. Crystallization of Polymorphs-The Effect of Solvent. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 1993, 26 (8B), B90—B93.
87. Li, L.; Rodríguez-Hornedo, N. Growth Kinetics and Mechanisms of Glycine Crystals. *J. Cryst. Growth* 1992, 121, 33—38.
88. Zipp, G. L.; Rodríguez-Hornedo, N. The Mechanism of Phenytoin Crystal-Growth. *Int. J. Pharm.* 1993, 98 (1—3), 189—201.
89. Lechuga-Ballesteros, D.; Rodríguez-Hornedo, N. The Influence of Additives on the Growth Kinetics and Mechanism of L-Alanine Crystals. *Int. J. Pharm.* 1995, 115 (2), 139—149.
90. Lechuga-Ballesteros, D.; Rodríguez-Hornedo, N. Effects of Molecular Structure and Growth Kinetics on the Morphology of L-Alanine Crystals. *Int. J. Pharm.* 1995, 115, 151—160.
91. Yip, C. M.; Ward, M. D. Atomic Force Microscopy of Insulin Single Crystals; Direct Visualization of Molecules and Crystal Growth. *Biophys. J.* 1996, 71 (2), 1071—1078.
92. Malkin, A. J.; Kuznetsov, Y. G.; Glantz, W.; McPherson, A. Atomic Force Microscopy Studies of Surface Morphology and Growth Kinetics in Thaumatin Crystallization. *J. Phys. Chem.* 1996, 100 (28), 11736—11743.
93. Yip, C. M.; Brader, M. L.; Defelippis, M. R.; Ward, M. D. Atomic Force Microscopy of Crystalline Insulins; The Influence of Sequence Variation on Crystallization and Interfacial Structure. *Biophys. J.* 1998, 74 (5), 2199—2209.
94. Kuznetsov, Y. G.; Malkin, A. J.; McPherson, A. Atomic Force Microscopy Studies of Phase Separations in Macromolecular Systems. *Phys. Rev. B: Condens. Matter* 1998, 58 (10), 6097—6103.
95. Volmer, M. Crystal Growth. *Z. Physik.* 1922, 9, 193.
96. Stranski, I. N. Zur Theorie Der Kristallwachstums. *Z. Phys. Chem.* 1928, 136, 259—278.
97. Burton, W. K.; Cabrera, N.; Frank, F. C. The Growth

- of Crystals and the Equilibrium Structure of Their Surfaces. *Philosophical Transactions* 1951, A243, 299—358.
98. Chernov, A. A. Formation of Crystals in Solution. *Contemporary Physics* 1989, 30, 251—276.
99. Bennema, P. Spiral Growth and Surface Roughening: Development Since Burton, Cabrera and Frank. *J. Cryst. Growth* 1984, 69, 182—197.
100. Zipp, G. L.; Rodríguez-Hornedo, N. Phenytoin Crystal Growth Rates in the Presence of Phosphate and Chloride Ions. *J. Cryst. Growth* 1992, 123, 247—254.
101. Lechuga-Ballesteros, D.; Rodríguez-Hornedo, N. The Relation Between Absorption of Additives and Crystal Growth Rate of L-Alanine. *J. Colloid Interface Sci.* 1993, 157, 147—153.
102. Garside, J.; Janssen-Van Rosmalen, R.; Bennema, P. Verification of Crystal Growth Rate Equations. *J. Cryst. Growth* 1995, 29, 353—366.
103. Durbin, S. D.; Feher, G. Studies of Crystal Growth Mechanisms of Proteins by Electron Microscopy. *J. Mol. Biol.* 1990, 212 (4), 763—774.
104. Sunagawa, I. *Morphology of Crystals*; Terra Scientific Publishing Company: Tokyo, Japan, 1987.
105. Himes, V. L.; Mighell, A. D.; De Camp, W. H. Structure of Carbamazepine; 5*H*-Dibenz [*b*, *f*] azepine-5-carboxamide. *Acta Crystallogr.* 1981, B37, 2242—2245.
106. Behme, R. J.; Brooke, D. Heat of Fusion Measurement of a Low Melting Polymorph of Carbamazepine That Undergoes Multiple-phase Changes During Differential Scanning Calorimetry Analysis. *J. Pharm. Sci.* 1991, 80 (10), 986—990.
107. McMahon, L. E.; Timmins, P.; Williams, A.; York, P. Characterization of Dihydrates Prepared from Carbamazepine Polymorphs. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85 (10), 1064—1069.
108. Krahn, F. U.; Mielck, J. B. Relations Between Several Polymorphic Forms and the Dihydrate of Carbamazepine. *Pharm. Acta Helv.* 1987, 62, 247—254.
109. Roberts, R. J.; Rowe, R. C. Influence of Polymorphism on the Young's Modulus and Yield Stress of Carbamazepine, Sulfathiazole, and Sulfanilamide. *Int. J. Pharm.* 1996, 129, 79—94.
110. Kaneniwa, N.; Ichikawa, J.-I.; Yamaguchi, T.; Hayashi, K.; Watari, N.; Sumi, M. Dissolution Behavior of Carbamazepine Polymorphs. *Yakugaku Zasshi* 1987, 107, 808—813.
111. Matsuda, Y.; Akazawa, R.; Teraoka, R.; Otsuka, M. Pharmaceutical Evaluation of Carbamazepine Modifications: Comparative Study for Photostability of Carbamazepine Polymorphs by Using Fourier-transformed Reflection-absorption Infrared Spectroscopy and Colorimetric Measurement. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46, 162—167.
112. Kobayashi, Y.; Ito, S.; Itai, S.; Yamamoto, K. Physicochemical Properties and Bioavailability of Carbamazepine Polymorphs and Dihydrate. *Int. J. Pharm.* 2000, 193, 137—146.
113. Lefebvre, C.; Guyot-Herman, A. M.; Draguet-Brughmans, M.; Bouche, R.; Guyot, J. C. Polymorphic Transitions of Carbamazepine During Grinding and Compression. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1986, 12, 1913—1927.
114. Lowes, M. M.; Caira, M. R.; Lotter, A. P.; Van Der Watt, J. G. Physicochemical Properties and X-ray Structural Studies of the Trigonal Polymorph of Carbamazepine. *J. Pharm. Sci.* 1987, 76 (9), 744—752.
115. Ceoline, R.; Toscani, S.; Gardette, M.; Agafonov, V. N.; Dzyabchenko, A. V.; Bachet, B. X-ray Characterization of the Triclinic Polymorph of Carbamazepine. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86 (9), 1062—1065.
116. York, P. Solid-state Properties of Powders in the Formulation and Processing of Solid Dosage Forms. *Int. J. Pharm.* 1983, 14, 1—28.
117. Williams, R. O.; Brown, J.; Liu, J. Influence of Micronization Method on the Performance of a Suspension Triamcinolone Acetonide Pressurized Metered-Dose Inhaler Formulation. *Pharm. Dev. Tech.* 1999, 4 (2), 167—179.
118. Chew, N.; Chan, H. Influence of Particle Size, Air, Flow, and Inhaler Device on the Dispersion of Mannitol Powders As Aerosols. *Pharm. Res.* 1999, 16 (7), 1098—1103.
119. Vernaet, C.; Byron, P. R. Drug-Surfactant-Propellant Interactions in HFA-Formulations. *Int. J. Pharm.* 1999, 186 (1), 13—30.
120. Sinclair, B. D.; Rodríguez-Hornedo, N. A Molecular Simulation Approach to Interpret the Effects of Intermolecular Interactions Between Additives and Crystal Surfaces on the Morphology of Carbamazepine Dihydrate, In Preparation.
121. Lechuga-Ballesteros, D.; Rodríguez-Hornedo, N. Growth and Morphology of D-Alanine Crystals: Influence of Additive Adsorption. *Pharm. Res.* 1993, 10, 1008—1014.
122. Berkovitch-Yellin, Z. Toward An Ab Initio Derivation of Crystal Morphology. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 107, 8239—8253.

J

123. Bravais, A. *Etudes Crystallographiques*; Gauthier-Villars: Paris, 1907.
124. Friedel, G. *Bull. Soc. Fr. Mineral* 1907, 30, 326—455.
125. Donnay, J. D. H.; Harker, D. A New Law of Crystal Morphology Extending the Law of Bravais. *Am. Mineral.* 1937, 22, 446—467.
126. Docherty, R.; Roberts, K. J. Modelling the Morphology of Molecular Crystals; Application to anthracene, biphenyl, and  $\beta$ -succinic acid. *J. Cryst. Growth* 1988, 88, 159—168.
127. Clydesdale, G.; Docherty, R.; Roberts, K. J. HABIT—A Program for Predicting the Morphology of Molecular Crystals. *Comput. Phys. Commun.* 1991, 64, 311—328.
128. Hartman, P.; Perdok, W. G. On the Relations Between Structure and Morphology of Crystals. *Acta Crystallographica* 1955, 8, 49—52.
129. Hartman, P.; Bennema, P. The Attachment Energy As a Habit Controlling Factor. *J. Cryst. Growth* 1980, 49, 145—149.
130. Lifson, S.; Hagler, A. T.; Dauber, P. Consistent Force Field Studies of Intermolecular Forces in Hydrogen-bonded Crystals. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101 (18), 5111—5121.
131. Clydesdale, G.; Roberts, K. J.; Docherty, R. HABIT95—A Program for Predicting the Morphology of Molecular Crystals As a Function of the Growth Environment. *J. Cryst. Growth* 1996, 166, 78—83.
132. Black, S. N.; Davey, R. J.; Halcrow, M. The Kinetics of Crystal-Growth in the Presence of Tailor-Made Additives. *J. Cryst. Growth* 1986, 79 (1—3), 765—774.
133. Davey, R. J.; Black, S. N.; Goodwin, A. D.; Mackerron, D.; Maginn, S. J.; Miller, E. J. Crystallisation in Polymer Films; Control of Morphology and Kinetics of an Organic Dye in a Polysilicone Matrix. *J. Mater. Chem.* 1997, 7 (2), 237—241.
134. Chen, B. D.; Garside, J.; Davey, R. J.; Maginn, S. J.; Matsuoka, M. Growth Of M-Chloronitrobenzene Crystals in the Presence of Tailor-Made Additives—Assignment of the Polar Axes from Morphological Calculations. *J. Phys. Chem.* 1994, 98 (12), 3215—3221.
135. Etter, M. C. Hydrogen -Bonds As Design Elements in Organic Chemistry. *J. Phys. Chem.* 1991, 95 (12), 4601—4610.
136. Rodriguez-Hornedo, N.; Murphy, D. Significance of Controlling Crystallization Mechanisms and Kinetics in Pharmaceutical Systems. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88 (7), 651—660.
137. Morris, K.; Rodríguez-Hornedo; Hydrates, N. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Boylan, J. C., Swarbrick, J., Eds.; 1993; 393—440.
138. Nass, K. K. Process Implications of Polymorphism in Organic Compounds. *AIChE* 1991, 284, 72—81.

### 进一步阅读

- Brittain, H. G. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
- Byrn, S. R.; Pfeiffer, R. R.; Stowell, J. G. *Solid-State Chemistry of Drugs*; SSCI, Inc.: West Lafayette, IN, 1999.
- Chernov, A. A. *Modern Crystallography III: Crystal Growth*; Springer-Verlag: Berlin, 1980.
- Cullity, B. D. *Elements of X-ray Diffraction*; Addison-Wesley Publishing Company, Inc.: Reading Massachusetts, 1978.
- Gavezzotti, A. *Theoretical Aspects and Computer Modeling*; John Wiley & Sons Ltd.: New York, 1997.
- Mersmann, A. *Crystallization Technology Handbook*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
- Mullin, J. W. *Crystallization*; Butterworth-Heinemann Ltd.: Oxford, 1993.
- Myerson, A. S. *Handbook of Industrial Crystallization*; Butterworth-Heinemann Ltd.: Oxford, 1993.
- Söhnle, O.; Garside, J. *Precipitation: Basic Principles and Industrial Applications*; Butterworth-Heinemann Ltd.: Oxford, 1992.
- Zettlemoyer, A. C. *Nucleation*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1969.

(李 军 译)

# 近红外光谱法用于片剂评价

Christopher T. Rhodes

Karen Morisseau

University of Rhode Island, Kingston, Rhode Island, U. S. A.

## 引言

近红外光谱 (NIRS) 正成为一种越来越重要的分析技术。它的独特优点在于可以进行快速、非破坏性的定性和定量分析。多年来, NIRS 在农业和食品工业中广泛用于测定谷物的湿度以及蛋白质和淀粉的含量<sup>[1]</sup>。制药工业也已经逐渐谨慎地接受 NIRS 为一种常用的技术, 这可能是因为 NIR 光谱中缺少特异性的主要吸收带。近年来, 有关 NIR 光谱理论的学术研究正越来越多。NIRS 在制药工业中的应用得到了发展, 部分是因为仪器和软件技术的进步。

最近发表的几篇综述<sup>[2~7]</sup>表明 NIRS 正在越来越流行。有关 NIRS 在药学中应用的教科书<sup>[8]</sup>也越来越多。与药学有关的文献可以追溯到 20 世纪 80 年代早期<sup>[9,10]</sup>。然而, 更早的 NIRS 论文并没有引起当时制药工业的重视。1966 年, Sinsheimer 和 Keuhnelian<sup>[11]</sup>报道压成小丸的药物活性组分的 NIRS 定量分析工作。

NIRS 是一种涉及分析化学、统计学和计算机程序等众多学科方法的分析技术。化学计量学指的是应用数学和统计的方法测定复杂的化学体系。化学计量学定义<sup>[12]</sup>为一种运用数学、统计和其他形式逻辑方法来设计、选择或优化测量程序和实验, 并通过分析化学数据找出最大相关化学信息的化学学科。

在分析数据的解释方面化学计量学被广泛使用, NIRS 方法的建立也依赖于化学计量学。

在药学领域, NIR 更多地用作一种二级分析技术, 而较少作为一级分析工具。作为一种二级分析技术, 就需要有一种对照方法来测定参比组分值, 该值在 NIRS 校正模型建立过程中需要使用。组分的性质与吸光度之间的关系数学表达称为校正模型 (也就是一种算法)。使用高级的光谱软件, 分析者可以将样品光谱和实验室数据进行相关, 建立校正模型, 并用校正模型对相似的新样品的组分特性进行预测。

## 理论

在电磁波谱图上, NIR 的波长区域为 800~2500nm。Herschel 区域<sup>[13]</sup>, 即 1100~2500 nm 范围, 是药品分析时最常使用的光谱范围。在 NIR 区域, 辐射能量可以穿透致密的材料如药片, 提供有关样品的大量光谱信息。

光谱的 NIR 区中含有含氢基团 (OH、CH、NH) 的倍频与合频吸收带。这些倍频与合频吸收带较基频振动吸

收要弱许多, 这样, 摩尔吸收系数要比相应的红外光吸收带小很多。小的摩尔吸收系数使得不必对样品进行稀释, 就可以穿透固体样品得到较好的结果。

近红外区域和其他红外区域之间存在一些显著不同。传统的红外光谱仪通常在近红外、中红外或远红外区域操作, 这取决于所使用的光源和检测器。NIR 的波长范围正好在以 nm 为波长单位的可见光之外。光谱其他区域是以波数为单位的。这样, NIR 的光谱区域是 14 300~4000cm<sup>-1</sup>, 中红外 4 000~200cm<sup>-1</sup>, 远红外 200~10cm<sup>-1</sup>。

## 仪器

NIRS 仪通常被设计为透射或反射式, 有些仪器可以让用户在两者之间切换。两者间的配置差别在于样品和检测器的位置。在透射模式中, 样品置于单色器和检测器之间, 使得整个样品的光路进入测量。透射测量需要更高频率的能量 (800~1400nm), 因为光线穿入样品更深<sup>[14]</sup>。在反射模式中, 单色器光线直接照在样品上, 反射光线由与样品成 45°角的检测器收集。

仪器的发展为分析工作提供了更多的选择。这包括为客户特定应用而设计的样品池的仪器以及一些通用型的仪器。在过去的 10 多年中, 关于样品固定池<sup>[15]</sup>、样品台<sup>[16]</sup>和溶出度光纤系统<sup>[17]</sup>等, 已有各种各样的专利产生。

Noble<sup>[18]</sup>发表了一篇综述广泛回顾了近年来的 NIRS 技术。化学计量学和计算能力方面的巨大进步使得许多新的应用成为可能。在美国有许多近红外分光光度仪制造商。样品组件和数据分析软件包的供货商也有许多。最近的仪器和软件的研究数据可直接从互联网上获得。因为大多数厂商有网站。很多网址<sup>[19]</sup>提供与专业光谱学组织、光谱杂志出版商和有关 NIRS 在药学领域应用的专利<sup>[20]</sup>的链接。

美国 FDA 的药物分析部在 NIRS 仪器制造商和药品生产商间开展了一系列片剂、硬胶囊和软胶囊以及粉末样品分析的合作研究。研究的目的是为了证明近红外扫描在不同制造商生产的仪器之间并不具独特性。研究的另外一个目的是建立 FDA 对药物分析近红外仪器的仪器合格和性能验证的指南。9 个制造商参加了该项研究, 他们代表了不同类型单色器的制造商 (声光可调滤光器 AOTF, 色散型和傅里叶转换型 FT-NIR)。Ciurczak<sup>[21]</sup>详细报道了一些关于该项研究的信息, 比较了相似产品的仪器性能, 为 NIRS 仪的潜在购买者提供了一些比较信息。Ciurczak 的结论是光谱的质量取决于单色器。在 FT-NIR 和色散型仪器中均存在一定范围的噪声可变性。检查报道中的光谱试验

表明了仪器间光度计噪声和光谱分辨率的差别(在某个光谱区域)。其中的一个制造商, Analytical Spectral Devices, Inc., 是该报告的光谱提供者并通过互联网提供他们的数据。

## 数据分析和校正

### 1. 光谱数据获取

样品的扫描过程相当简单而且非常快速。首先, 轻轻地样品支架和表面擦干净, 并进行参考背景(通常是一个高氏陶瓷的内标物)的扫描。然后将样品放置在样品支架上, 样品支架可以容纳一个或多个特定类型的样品。固定样品, 盖上盖子, 然后开始扫描。扫描时间大约是 40s。如果需要对样品进行多次扫描, 可以将样品取下重新放上去再进行扫描。仪器的软件可控制扫描过程并允许进行光谱命名和数据存储。

### 2. 校正

建立校正模型是用来确定校正样品和样品中待测组分光谱值间的关系。校正过程包括获得涵盖测定范围的所有样品的光谱并测得相应的参数。一个复杂样品的稳定的化学计量学模型可能需要成百上千个涵盖所有可能情况的样品, 包括合格的或不合格的。校正样品的选择必须包含所有影响待测样品的物理和化学性质的因素。为了研究每一个变量源, 推荐每一个变量使用 15~20 个样品。对光谱进行数学处理, 如对原始光谱数据进行二阶导数进行回归, 进而建立校正方程。这种处理方法得到的数据文件将比原始数据文件提供更多的信息。

由于 NIRS 谱带包含倍频与合频的复合信息, 特定波长处的峰强度与样品浓度的改变不一定成线性变化。对于混合物, 谱带的重叠可能进一步干扰峰强度与浓度之间的线性关系。这就是为什么简单的 Beer 定律:  $A = \epsilon bc$  (其中  $A$  为吸光度,  $\epsilon$  为吸光系数,  $b$  为光程,  $c$  为样品浓度) 可能不适合建立定量方程的原因。多元回归技术可避免这个问题。线性校正方法如多元线性回归 (MLR)、主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘回归 (PLS) 法是 NIRS 分析的常规方法。回归技术的选择, 取决于许多因素。这些技术的进一步描述见 Thomas<sup>[22]</sup> 对多元校正方法的介绍。其他对 NIRS 有用的化学计量学技术包括自举误差调整单样品技术 (bootstrap error-adjusted single-sample technique, BEAST), 它是一个非参数群集算法, Lodder 和他的合作者<sup>[23]</sup> 用该法测定胶囊干扰。定性 NIRS 方法用模式识别技术“训练”计算机, 以使之能够对未知材料进行鉴别。Mark 和 Tunnell<sup>[24]</sup> 介绍了残差方法和判别分析 (马氏距离), Gemperline 和 Boyer<sup>[25]</sup> 对其进行了比较。Gerhauser 和 Kovar<sup>[26]</sup> 报道了优化光谱库的策略并比较了鉴别 117 个药物原料的两种模式识别方法。

### 3. 验证

不管用何种数学方法解释 NIR 光谱, 都必须经过验证过程。验证指标包括线性、准确性、选择性和定量方法的重现性。

验证过程决定了样品值的变化所带来的误差大小。验证过程用来检查在校正集和验证集之间的是否存在相关性。NIRS 仪器制造商提供的软件包允许操作者根据所存储的数据预测分析结果, 从而对已建立校正方程进行验证和误差测试。这使得操作者可以对校正方程的精密性进行性能测试。模型的有效性取决于校正集样品能否精确代表预测集样品的能力。

预测误差的来源之一是所使用的参比分析方法固有的准确度和精密性。如果参比方法的结果总是偏高或偏低, 这些偏差就会在预测结果中反映。另外一个预测误差来源于 NIRS 仪器的重现性、稳定性和仪器的重复能力。重现性 (精度) 通过同一个样品不断移出和装上并进行反复测量来验证。测量条件的微小改变会由于样品的多次插入而出现。稳定性是指随时间 (小时或天) 而出现的相似变化。重复能力是指仪器在相同测量条件下短时 (秒或分钟) 得到相同结果的能力 (不需要将样品移出)。所有这些因素都应该考察以确保 NIRS 校正模型的可靠。

### 4. 法规问题

美国测试和材料学会 (ASTM) 近来出版的一个官方文件<sup>[27]</sup> 为光谱学家进行红外光谱仪的多元校正提供了指导。该出版物为“红外多元定量分析标准规范”, 其内容包括测定材料物理和化学性质的多元校正方法。该文件是第一个红外和近红外仪器的化学计量学多元分析应用的官方标准。

世界范围的管理机构同意将 NIRS 方法用于多种目的。1995 年 6 月, 药物控制中心 (MCA) 批准英国葛兰素威康公司采用 NIRS 方法鉴别和分析阿昔洛韦片 Zovirax®。这是 NIRS 方法获得 MCA 批准首次用于药片分析。

在挪威, Wieders Farnasoytiske A/S 得到批准使用 NIRS 方法作为一种替代方法用于扑热息痛片剂的鉴别、分析和水分测定。挪威 MCA 在 1996 年 12 月批准了该方法。

其他的官方批准在本文的后面一些节中进行介绍。

## 现有的片剂评价方法

片剂评价的官方标准由《美国药典》(USP) 和其他的药典规定, 包括制剂均匀性 (片重差异、含量均匀度) 和崩解实验。非官方的试验包括机械强度 (硬度、压力) 和抗磨损能力 (脆碎度)。当前片剂评价的法定方法的主要缺点是费时和对样品的破坏。一旦样品完成了一项测试, 样品也就失去了其完整性 (除了质量测试外), 也就不能在同样品上进行其他测试。例如, 传统的定量分析如 HPLC 需要先将样品研碎, 然后用合适的介质溶解和稀释。每一



个样品的重复测定都需要花费大量的时间和劳动。其他常规的片剂评价方法在样品预处理上也需要花费大量时间,如中红外分析时需要进行 KBr 压片。

片剂的机械强度是开发和控制程序中的一个重要参数。硬度是机械强度测试时广泛使用的一个指标。它定义为直接对片剂加压时刚好将其压碎所需的力<sup>[28]</sup>。药片的硬度取决于物料的量 and 压片时上下两个冲头间的间隙。硬度的不一致可能来源于这些参数的不一致。粉末压制的基本原理见 Leuenberger 和 Rohera 的报道<sup>[29]</sup>。

Erweka 硬度测试仪通过往样品上施加与长轴方向成 90° 角的负荷来测定水平方向的压碎力。这种类型的硬度测试仪受两种固有误差的影响:①可能不正确的零值;②刻度不能准确地显示真正的负载。其他商品化的仪器包括 Strong—Cobb、Monsanto 和 Pfizer 硬度测定仪。不同的硬度测定仪测定的硬度可能存在差异,这可能是因为仪器的刻度不准确、零点调节有误或者施加负荷的方法不一致等。当比较不同测定仪的结果时需要校正。片剂的物理尺寸和形状也可能影响耐压性。

传统的片剂硬度测定方法也可能存在主观操作误差。Erweka 硬度测定仪的刻度为 0.25kg。许多情况下,片剂的读数会出现在上下两个刻度之间,操作者需要估计其结果。

药片包衣工艺在制药工业中非常普遍。由纤维素衍生物和其他聚合物组成的水膜包衣对于控制药物的溶出很有用。质量分析和 HPLC 常用于确定包衣工艺的终点。

## NIRS 用于片剂评价的优点

NIRS 是一个非破坏性的方法,这样,100%的批次检查理论上是可行的,从而可以更好地控制产品的一致性。NIRS 也是一种非侵害性的方法,使得同一药片在进行 NIRS 分析后还可以用其他方法进行分析。样品可以留着进一步用 NIRS 或其他方法进行分析,从而获得不同测试的相关性。这对于生产厂家经济上的优点是显而易见的,因为他们可以通过减少留样而增加每一批产品的利润。在产品开发的早期阶段,药物的供应有限时,NIRS 技术特别有用。

NIRS 分析快速,一个样品分析时间不到 1min。而且,NIRS 分析无需使用和处理有机溶剂,因此降低了环境污染。仪器操作,纤维光学以及程序系统方面的改进提供了更多的选择。便携式 NIRS 装置也已出现。

易降解的样品可以在每个时间间隔取出分析并返回到相应的储存条件下继续储存,从而极大地减少了从批次中取出的样品数。

粉末样品分析可直接透过没有打开的玻璃瓶或安瓿,因为玻璃不会产生 NIRS 吸收。直接穿过容器进行测量会减小采样误差。

样品的多个组分可同时分析。获得的单个光谱可同时与几个不同的校正集进行比较,这样可以一次分析多个组分,从而节约了时间和精力。

## NIRS 用于片剂评价的局限

对于原料或产品的初始校正过程是一项非常详尽的工作。对样品中的每一个组分均需要一个校正方程。NIRS 校正必须是针对处方的。NIRS 方法的准确性不会比其参比方法更好。当包含了所有预期的变量后模型的稳定性会改善。仔细的选择代表性样品对于建立成功的校正模型是相当重要的。数学方法的选择很大程度上取决于样品的特点。

另外一个问题是校正模型在多台仪器间的重现性。这已经成了 NIRS 技术推广过程中的重要障碍。转移能力对于多场所工厂的应用是相当重要的,因为可以避免非常耗时的重新建模工作。校正误差可能由于仪器响应的微小不同而出现,特别是使用全光谱多元校正模型。Shenk 和 Westerhaus<sup>[30]</sup>叙述了这个问题并提出了一个标准化算法,并由后来者进行了改进<sup>[31,32]</sup>。

片剂的物理性质也会影响校正过程。例如,有刻痕的药片和那些几何形状不一样的药片,较平的无刻痕的药片的光谱更易变。我们实验室<sup>[33]</sup>在用 NIRS 测定以 Avicel® 为基质的氯苯那明刻痕片时证明了这些差别。包含平的和凹的片剂的混合校正模型显示了硬度预测结果是可变的,这也说明了校正模型中应包含相似组成的样品。

Borer 和他的合作者<sup>[34]</sup>发表了关于进行药品 NIRS 分析时可能遇到的可变量性来源的有价值的论文。从事 NIRS 方法建立的分析家应该重视该报告。该报告包括的参数有:

- 仪器设置(平均每个光谱的扫描次数,光圈的开关,参考光谱采集的频率);
- 数据处理(二阶导数计算的片断值);
- 库设计(总样品数,完成库的天数)。

## 药物性质

### 1. 原材料鉴别

NIRS 对于药物原料和最终剂型的分析均非常有用。早在 1982 年就有用 NIRS 进行药物原料定性分析的报道<sup>[35]</sup>。辅料和活性化合物的最大变量是水分和粒径<sup>[36,37]</sup>。这些参数用 NIRS 检测相当容易。通过将光纤直接插入桶内,进来的原料在接收站就可以进行快速鉴别测试。每一批购买的原料的光谱图可以加入到不断增加的光谱库中。

用 NIRS 作为一种鉴别方法需要建立一个包含大量化合物光谱的综合库。样品扫描后通过从库中寻找最相似的光谱来对其加以鉴别。样品光谱与库中参考光谱的比较是通过计算光谱矩阵的余弦夹角来进行的。计算结果称为光谱匹配值(SMV),其值在+1~-1之间,其中+1表示两个光谱完全匹配。Plugge 和 Van Der Vlies<sup>[38]</sup>利用该方法鉴别了氨苄西林三水合物。他们设置的 SMV 阈值为 0.9980,

## J

高于此值则为氨苄西林的阳性结果。一致性指数 (conformity index CI) 的计算也可以用于建立批样品与标准规格间的一致程度。一致性检测实验通过比较一批样品的平均光谱与同样材料和合格的代表性光谱库的差别, 可以检测出与正常工艺的偏离。

## 2. 粒径

在许多药品的生产过程中, 粒径的测量是一个关键问题。大家知道, 粒径分布直接影响粉末的物理特性, 如溶出速度、粉末流动性、堆密度和可压性等。传统的粒径测定方法包括筛分法和激光衍射法<sup>[39]</sup>。

Ciurczak 等<sup>[40]</sup>报道了用 NIRS 法测定纯的粒状样品的粒径。该方法基于反射理论, 反射随着粒径的减小而增大。参照方法是采用低角度激光散射 (LALS) 粒径测定仪 (Malvern)。他们发现粒径大于 85nm 的样品的线性关系, 但对于更小的颗粒精度较差。

O'Neil 等<sup>[41]</sup>介绍了一个测定许多化合物和赋形剂的中值粒径的 NIRS 方法。筛分的和整体样品的 Malvern 数据和 NIRS 反射光谱被用于构建 MLR 和二次最小二乘校正模型。他们还报道了<sup>[42]</sup>成功应用 NIRS 测定微晶纤维素粒径分布的累积百分率, 该项研究比较了三波长 MLR 法和主成分回归 PCR 法, 每个模型都是使用 Malvern 和 NIR 反射数据。PCR 模型的 SEPs 更小, 表明其稳定性比 MLR 好。

Frake 与其合作者<sup>[43]</sup>广泛比较了用 NIRS 法测定乳糖一水合物中值粒径的多种化学计量技术, 用零阶和二阶导数评价的模型有 MLR、PLS (偏最小二乘法) 和 ANN (人工神经网络)。结论是有多种方法可用于处理数据和建立一个好的校正模型。该小组还证实了以前的观察, 即数据进行导数处理没有消除“粒径效应”(以前认为会导致基线漂移)。

其他的研究者<sup>[44]</sup>也报道了将 NIRS 用于颗粒粒径测定。

## 3. 多态现象和外消旋作用

许多药物可能有不同的晶型或多态。尽管不同晶型的化学性质一致, 但它们的分子排列不一样而显示不同的特性。每一个晶型可能拥有不同的能量水平, 最终影响化合物的溶出速率。多晶型体的红外光谱可能由于官能团的排列不同 (氢键和偏振可能受到影响) 而不同。传统的多晶型的鉴别方法是差示扫描量热法 (DSC) 和 X 射线衍射法。但这些技术是破坏性的, 因此不可能对同一个样品进行重复测定。Ciurczak<sup>[45]</sup>报道了用 NIRS 鉴别咖啡因的多晶型。Aldridge 及其合作者<sup>[46]</sup>也报道了用 NIRS 测定多态现象, 其中用到了模式识别方法区分药物所需要的晶型和不需要晶型, 该工作的重要成果是没有应用多元校正转移算法就成功地实现了模型在 6 台仪器间的转移。

Gimet 和 Luong<sup>[47]</sup>用 NIRS 测定了制粒过程是否引起外消旋。其他学者<sup>[48]</sup>也对光学异构体的鉴别进行了报道。

## 4. 水分

经典的水分测定方法是 Karl Fischer 滴定法、气相色谱法 (GC) 和干燥失重法 (LOD)。使用 NIRS 法时, 水的存在可以由 1920~1950nm 范围的 NIRS 主吸收带所显示。最大吸收和峰形取决于水分所处环境中的氢键结合。氢键越强, 最大水吸收峰在 NIR 谱图上的位置越向长波长方向移动。第二个水分吸收带可能出现在 1450nm 左右的位置, 它是由于结合水引起的。

用 NIRS 测定含水量的研究由许多研究者加以介绍<sup>[49~51]</sup>。Plugge 和 Van Der Vlies<sup>[52]</sup>描述了用 NIRS 法测定氨苄青霉素的 8 个质量控制指标:

- 鉴别
- 水分
- 结晶性
- 氨苄青霉素含量
- 无水氨苄青霉素比例
- 残留试剂
- 残留有机溶剂
- 残留起始原料

De Thomas 和 VonBargen<sup>[53]</sup>申请了一个 NIRS 光纤系统用于测定粉末湿度或粉末中一个组分的专利。Bentsson 等<sup>[54]</sup>报道了在线硬胶囊水分 NIRS 测定。胶囊在不同的湿度环境中达到平衡态, 相对含水量用干燥失重法测量。

Lilly 公司的 Zhou 与其合作者<sup>[55]</sup>开发了一个用 NIRS 方法测定冷冻干燥药品中水分的方法, 他们以 GC 为参比方法。当水分含量为 0.1%~5.7% 时, 预计标准误差低至 0.07% (w/w)。在水分含量非常低的情况下, 他们发现 GC 法比 NIRS 法更准确。

Corti 与其合作者<sup>[56]</sup>建立了一种测定盐酸雷尼替丁药片中水分含量的方法。以 KF 滴定法为参比方法, 对于水分含量低于 1% 的样品, NIRS 法误差较大。

Dziki 等<sup>[57]</sup>用 NIRS 监测沙拉沙星晶格中水分的流动性。研究的是兽药沙拉沙星的水法制粒工艺。一批不合格的产品通过 X 射线粉末衍射、中红外光谱、差示扫描热量测定 (DSC) 和 TGA 法无法与合格的产品区分。NIRS 法可测定制粒过程水分吸收的中间过程, 并使得该工艺得以控制。

用 NIRS 测定水分的一个有趣报道是 Helene Curtis 有限公司的 Martin<sup>[58]</sup>用 NIR 法测定皮肤中的水。NIRS 测定显示皮肤中包含 4 种类型的水。研究者对每个类型的吸收带做了假设:

- 脂质双分子膜 (1875nm)
- 蛋白质基团上的二级和一级水 (1909nm 和 1923nm)
- 角质层下面的主体水 (1890nm)

研究在两个志愿者身上进行在体测试, 并在猪皮上进行体外测试。尽管与片剂评价不相关, 但因其对透皮给药

湿的结论值得人们注意。

## 产品质量评价

### 1. 鉴别和效价

有关 NIRS 法用于固体和液体制剂鉴别的文献报道<sup>[59~62]</sup>在 20 世纪 90 年代大量增加。有关这方面的早期工作已有综述(见引言)。实际上所有新的 NIRS 方法在分析中都包含产品鉴别。Gottfries 与其合作者<sup>[63]</sup>报道了用 NIRS 法测定控释片中美托洛尔的含量。在其工作中,他们对漫反射法和透射法进行了比较。结果发现用透射法预测片剂含量更好,原因是反射光谱法对材料的不均匀性太敏感。

Ebube 与其合作者<sup>[64]</sup>报道了用 NIRS 法鉴别粒径不同的三类 Avicel<sup>®</sup> 产品。该方法也用于预测片剂硬度和润滑剂浓度。不论样品量多小,都得到了较好的结果。

North、Young 和 Leng 等<sup>[65]</sup>近来对 NIR 漫反射和透射法在药片分析上的应用作了一个有趣的比较。所使用的片剂有不同的含量和大小,并且有的包衣有的未包衣。两种方法对药片的剂量都能分辨。包衣的和未包衣的药片的反射光谱不同,但用透射法时差别很小。反射光谱的两个峰中,只有一个在透射光谱中出现,而另一个由于在其所在的光谱范围内光线没有透过而没有出现。两种方法产生的光谱均因片剂的大小和表面曲率不同而有差别。

Merckle 和 Kovar<sup>[66]</sup>分别用 NIR 透射法和反射法分析了泡腾片(完整的和粉末的)。比较了反射法和透射法用于乙酰水杨酸及乙酰水杨酸与维生素 C 和(或)扑热息痛组合物的定量测定结果。Corti 等<sup>[67]</sup>报道了 NIR 透射法用于分析包衣片剂,对于完整的和研碎的药片均进行了分析。

Brashear 与其合作者<sup>[68]</sup>建立了一种在聚合物植入剂中量化洛美沙星和聚乙二醇的 NIR 漫反射法。致孔剂如 PEG 的性质会影响药物从基质中的释放速率。

Sondermann 和 Kovar<sup>[69]</sup>研究了用 NIRS 法鉴定摇头丸街头样品。摇头丸药片可能含有 *N*-甲基-3,4-亚甲二氧基苯丙胺(MDMA)或 *N*-乙基-3,4-亚甲二氧基苯丙胺(MDE)和其他安非他明衍生物。另外,对于各种辅料,非标准化的生产工艺可能会产生不均匀的药片。作者在其校正模型中包含了较宽范围的辅料,并成功地构建了 3 个用于鉴别的 PLS 模型。

#### 1.1 泡罩包装的供临床试验用片剂的鉴别

Dempster 等<sup>[70]</sup>报道了一种鉴定泡罩包装中药片的非接触性 NIRS 方法。该方法鉴别和区分了试验药物、安慰剂药片和临床对照药片的不同效能。

Aldridge 与其合作者<sup>[71]</sup>用 NIRS 法非破坏性地鉴别了泡罩包装中的药片。NIRS 方法大大减少了传统 TLC 方法所需的大量时间。TLC 法分析 40 个药片需要一整天的时间,而 NIRS 分析 10 个药片只需 7min。

### 1.2 假药的检测

Lodder、Selby 和 Hieftje 等<sup>[72]</sup>用 NIRS 法检测了胶囊填充物。研究和测试了几个添加或不添加不同的掺杂物的非处方药品。NIRS 法提供了一种快速、非接触性的鉴别方法以寻找已知的外来物质。NIRS 方法的局限性之一是无法预知产品中可能存在哪种物质。尽管许多掺假物的 NIR 光谱可能存在于光谱库中,但可能由于产品中又添加了一种未知的物质而无法检测从而产生误差。

### 1.3 产品开发

在药物发现领域,化学家可用 NIRS 监测反应过程。Heam 与其合作者<sup>[73]</sup>用 NIRS 法监测了一种用于筛选抗结核药物的化合物的制备过程,如异烟酸肼(INH)在羰基化合物存在下反应得到 Schiff 碱。Forbes 与其合作者<sup>[74]</sup>用 NIRS 方法分析和鉴别了头孢菌素抗生素劳拉头孢制备过程中的两种中间体。

Bauer、Dziki 和 Quick 等<sup>[75]</sup>用 NIRS 法研究了红霉素片剂的溶出问题。该技术可鉴别在制备过程中存在脱水的二水合物,并发现该二水合物在片剂制备过程中逐渐与  $Mg(OH)_2$  结合,使溶出减慢。NIRS 法促使了加湿工艺的开发,提高了溶出速度。

## 2. 质量控制参数

### 2.1 片剂硬度

有研究发现 NIRS 信号随压力的不同而变化<sup>[76,77]</sup>。换句话说,药片硬度的不同会引起样品 NIR 光谱信号的改变。按常理推测,在压片过程中增加压力会使药片更光滑和更硬,也就导致了更小的光散射,从而使得吸光度增大和基线偏高。NIR 片剂硬度测试可以在测试其他参数如性质、水分和包衣厚度时同时完成。

Kirsch 和 Drennen<sup>[78]</sup>开展了 NIR 片剂硬度测试更深入的工作,探讨了用不同的数学模型进行校正的方法。其他学者也报道了将 NIRS 法用在片剂硬度测试上<sup>[64,79]</sup>。

### 2.2 片剂包衣

NIRS 法已经用于测定包衣和片芯厚度。Kirsch 和 Drennen<sup>[80]</sup>研究了用 NIRS 法现场监测 Wurster 柱中的薄膜包衣过程。该方法成功预测了在不同时间间隔内两种处方的包衣厚度,比化学方法更省时。Kirsch 和 Drennen<sup>[81]</sup>早期的工作报道了 NIRS 法测定茶碱片包衣膜参数。包衣越厚,光谱某些区域 NIRS 的吸光度越大,据此建立了药片硬度、包衣厚度和预测 50% 溶出时间的校正模型。

Merk 公司的 Buchanan 与其合作者<sup>[82]</sup>报道了用 NIRS 方法评价一种新型生产工艺的包衣厚度。该生产工艺为精确的薄膜包衣工艺,将速释的药物活性成分包在缓释的片芯外。对该工艺的测试结果表明 NIRS 法比 HPLC 法更快速更经济。NIRS 方法的使用加快了片剂评价速度,有助于

发现 Wurster 柱中的死点,从而使工艺的快速修正和改进成为可能。

### 2.3 降解产品测定

Drennen 和 Lodder<sup>[83]</sup>报道了监测阿司匹林分解过程的非破坏性 NIRS 方法。与水杨酸多步 HPLC 分析方法和美国药典阿司匹林鉴别方法不同, NIRS 方法对每个阿司匹林片剂的扫描只需 90s。作者将光谱的变化与水分的吸收、水杨酸的形成和药片在水化器中的时间进行了关联。

Shimoyama 及其合作者<sup>[84]</sup>报道了用原位光纤装置的 NIR 法对聚甲基丙烯酸甲酯的光解作用进行分析。这种源于相关学科的技术在制药系统中的潜在应用值得注意。

### 2.4 粉末混合过程和混合均匀性检测

粉末混合是药物生产过程的基本步骤。只有混合均匀的混合物才能装成活性成分剂量一致的产品。当前监测混合一致性的程序要求生产过程在一定的时间间隔内中止以获取样品。样品用取样器取自混合器的不同位置,然后送到实验室用传统方法如 HPLC 和 UV 等进行分析,直到活性成分达到该处方的标准。这种方法需要花费大量的时间和劳动,而且可能由于取样方法带来误差。

NIRS 方法已经被几个学者用来评价粉末混合过程。Wargo 和 Drennen<sup>[85]</sup>演示了 NIRS 法在测定粉末混合物均一性方面的应用。

1995 年,欧洲专利办公室向辉瑞研发中心的 Dr. Paul K. Aldridge<sup>[86]</sup>授予了专利,因其发明了一个混合和在线检测混合物的装置。该装置在一个 V 形混合器上安装了一个漫反射光纤探头。辉瑞公司的 Sekulic 与其合作者<sup>[87]</sup>描述了使用该装置在线监测粉末混合一致性的使用方法。在一个 8 升双壳 V 形混合器的旋转轴上安装了光纤探头。在指定的间隔内对光谱进行采集,使用一系列商业软件进行数据分析。检测 NIR 光谱随着时间的变化,结果发现光谱差异达到最小值时的时间比推荐的传统混合时间小许多。DeMaesschalck 等<sup>[88]</sup>用 Sekulic 等在文献中描述的 NIRS 在线方法设计了判断混合终点的方法。他们计算每个时间点的光谱间的平均标准偏差,并用每一个新测定点的光谱值与标准混合物光谱间的不同来监测混合过程中混合物的变化。

Merck 公司的科学家在 1996 年申请了一个美国专利<sup>[89]</sup>,他发明了一种测定片剂一致性的 NIRS 方法。该方法可用在压片过程(粉末混合、颗粒和压片)中检测物料。

## 结论

NIRS 法已被证明是一种快速、可靠和低成本的方法,在制药工业中有着广泛的用途。它不再是曾经被认为的一种深奥的方法。制药工业从农业和食品工业中学到了许多 NIRS 技术。药物科学家借用和改进了 NIRS 的概念和技术。所有学科的使用者都面临着共同的问题,如模型转移、湿度影响、粒径和多组分校正的精密性等。

NIRS 至今在药物原料鉴别方面还拥有许多未被开发的潜在用途。它已经开始取代传统的简单的方法用于质量控制,并获得了 FDA 和其他管理机构的认可,表明 NIR 是传统分析方法的可靠的替代方法。该领域的一些积极的学者正在努力地发展 NIRS 方法并使该方法获得取代传统方法的批准。对 NIRS 分析中数学的更多理解对 NIRS 分析技术的推广具有很大推动力。因为在起始建模阶段比较昂贵和校正工作比较耗时,希望使用 NIRS 分析技术的小公司可能发现将工作外包给更专业的团队是很明智的。

我们坚信 NIRS 将很快成为许多类型药物分析的一种确定的和标准的方法。

## 参考文献

1. Osborne, B. G.; Fearn, T. Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis; Longman Scientific & Technical; United Kingdom, 1986; 2.
2. Morisseau, K. M.; Rhodes, C. T. Proven and Potential Uses of Near-Infrared Spectroscopy for the Evaluation of Tablets; Tableting and Granulation Year Book. Pharm. Tech. Suppl. 6—11.
3. Morisseau, K. M.; Rhodes, C. T. Pharmaceutical Uses of Near-Infrared Spectroscopy. Drug Dev. Ind. Pharm. 1995, 21, 1071—1090.
4. Corti, P.; Dreassi, E. Near Infrared Reflectance Analysis: Features and Applications in Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Farmaco. 1993, 48 (1), 3—20.
5. MacDonald, B. F.; Prebble, K. A. Some Applications of Near-Infrared Reflectance Analysis in the Pharmaceutical Industry. J. Pharm. Biomed. Anal. 1993, 11, 1077—1085.
6. Axon, T. G.; Brown, R.; Hammond, S. V.; Maris, S. J. Focusing Near Infrared Spectroscopy on the Business Objectives of Modern Pharmaceutical Production. J. Near Infrared Spectrosc. 1998, 6, A13—A19.
7. Workman, J. J., Jr.; Review of Process and Non-Invasive Near-Infrared and Infrared Spectroscopy. Appl. Spectrosc. Reviews, May 1 1999, 34, 1—2, 1—89.
8. Ciurczak, E. W.; Drennen, J. K. Near Infrared Spectroscopy in Pharmaceutical and Medical Applications, Practical Spectrosc. Series; Gadamasetti, K. G., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, in press.
9. Rose, J. J.; Prissick, T.; Mindakia, J. J. Parent. Sci. Tech. 1982, 26, 71—78.
10. Ciurczak, E. W.; Torlini, R. P. Analysis of Solid and Liquid Dosage Forms Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. Spectrosc. 1987, 2 (3), 41—43.
11. Sinsheimer, J. E.; Keuhnelian. Am J. Pharm. Sci. 1996, 55, 1240.
12. Massart, D. L.; Vandeginste, B. G. M.; Deming, S. N.; Michotte, Y.; Kaufman, L. Data Handling in Science

- and Technology. *Chemometrics: A Textbook*; Vandeginste, B. G. M., Rutan, S. C., Eds.; Elsevier Publishing; New York, 1988; 2, 5.
13. Willard, H. H.; et al. *Infrared Spectroscopy. Instrumental Methods of Analysis*, 7th Ed.; Wadsworth Publishing Company; Belmont, 1988; 287.
14. Workman, J. J., Jr.; Burns, D. A. *Commercial NIR Instrumentation. Handbook of Near-Infrared Analysis*; Burns, D. A., Ciurczak, E. W., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1992; 37—51.
15. Lodder, R. A. Sample Holders or Reflectors for Intact Capsules and Tablets and for Liquid Microcells for Use in Near-Infrared Reflectance Spectrophotometers, US Patent 165, 751, November 21, 1989.
16. Drennen, J. K. Near-Infrared Reflectance Spectrometer System and Related Sample Cell and Sample Support, US Patent 898, 454, May 25, 1993.
17. Soloman, S. Non-Destructive Identification of Tablet and Tablet Dissolution by Means of Infrared Spectroscopy, US Patent 338, 909, October 21, 1997.
18. Noble, D. Illuminating Near-IR. *Anal. Chem.* 1995, 67 (23), 735A—740A.
19. — [http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/cnirs/ir\\_spec.htm](http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/cnirs/ir_spec.htm) (accessed May 2000).
20. — <http://leden.tref.nl/~mderksen/patents.html> (accessed May 2000).
21. Ciurczak, E. W. *Pharmaceutical Mixing Studies Using Near-Infrared Spectroscopy, Tableting and Granulation Yearbook*; Pharm. Tech. Supp. 1997, 18—28.
22. Thomas, E. V. A Primer on Multivariate Calibration. *Anal. Chem.* 1994, 66 (15), 795A—804A.
23. Lodder, R. A.; Selby, M.; Hieftje, G. M. Detection of Capsule Tampering by Near-Infrared Reflectance Analysis. *Anal. Chem.* 1987, 59, 1921—1930.
24. Mark, H. L.; Tunnell, D. Qualitative Near-Infrared Reflectance Analysis Using Mahalanobis Distances. *Anal. Chem.* 1985, 57, 1449—1456.
25. Gemperline, P. J.; Boyer, N. R. Classification of Near-Infrared Spectra Using Wavelength Distances; Comparison to the Mahalanobis Distance and Residual Variance Methods. *Anal. Chem.* 1995, 67, 160—16.
26. Gerhauser, C. I.; Kovar, K. A. Strategies for Constructing Near-Infrared Spectral Libraries for the Identification of Drug Substances. *Appl. Spectrosc.* 1998, 51, 1504—1510.
27. American Society for Testing and Materials (A. S. T. M.). *Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis*; Practice E1655-00, A. S. T. M.; West Conshohocken, Pennsylvania, 1995; 1—25.
28. Marshall, K.; Rudnic, E. M. *Tablet Dosage Forms. Modern Pharmaceutics*, 2 edn; Banker, G. S.; Rhodes, C. T., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1990; 355—425.
29. Leuenberger, H.; Rohera, B. D. *Fundamentals of Powder Compression. Pharm. Res.* 1986, 3 (1), 12—22.
30. Shenk, J. S.; Westerhaus, M. O. *Crop Sci.* 1991, 31, 1694—1696.
31. Bouveresse, E.; Massart, D. L. Modified Algorithm for Standardization of Near-Infrared Spectrophotometric Instruments. *Anal. Chem.* 1995, 67, 1381—1389.
32. Wang, Y.; Kowalski, B. R. *Appl. Spectrosc.* 1992, 46, 764—771.
33. Morisseau, K. M. The Effect of Compression Force on the Near-Infrared Spectra of Tablet Dosage Forms; University of Rhode Island, 1996; 130—242, Doctoral dissertation.
34. Borer, M. W.; Zhou, X.; Hays, D. M.; Hofer, J. D.; White, K. C. Evaluation of Key Sources of Variability in the Measurement of Pharmaceutical Drug Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1998, 17, 641—650.
35. Rose, J. R. Quantitative and Qualitative Analysis with NIRA. *Proceeding of the 2nd Annual Symposium on NIRA*, Technicon, Tarrytown, New York, July, 1982.
36. Ciurczak, E. W. *NIR Analysis of Pharmaceuticals. Handbook of Near-Infrared Analysis*; Burns, D. A., Ciurczak, E. W., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1992; 549—563.
37. Burger, T.; Fricke, J. NIR Radiative Transfer Investigations to Characterise Pharmaceutical Powders and Their Mixtures. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1998, 6, 33—40.
38. Plugge, W.; Van Der Vlies, C. Near-Infrared Spectroscopy as an Alternative to Assess Compliance of Ampicillin Trihydrate with Compendial Specifications. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1993, 11 (6), 435—442.
39. Aulton, M. E. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*. Churchill Livingstone; Edinburgh, 1988.
40. Ciurczak, E. W.; Torlini, R. P.; Demkowicz, M. P. Determination of Particle Size of Pharmaceutical Raw Materials Using Near-Infrared Reflectance Analysis. *Spectroscopy* 1986, 1, 36—39.
41. O'Neil, A. J.; Jee, R. D.; Moffat, A. C. The Application of Multiple Linear Regression to the Measurement of the Median Particle Size of Drugs and Pharmaceutical Excipients by Near-Infrared Spectroscopy. *Analyst* 1998, 123, 2297—2302.
42. O'Neil, A. J.; Jee, R. D.; Moffat, A. C. Measurement of the Cumulative Particle Size Distribution of Microcrystalline Cellulose Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Analyst* 1999, 124, 33—36.

43. Frake, P.; Gill, I.; Luscombe, C. N.; Rudd, D. R.; Waterhouse, J.; Jayasooriya, U. A. Near-Infrared Mass Median Particle Size Determination of Lactose Monohydrate, Evaluating Several Chemometric Approaches. *Analyst* 1998, 123, 2043—2046.
44. Dredan, J.; Zelkő, R.; Antal, I.; Bihari, E.; Răcz, I. Effect of Particle Size and Coating Level on the Diffuse Reflectance of Wax Matrices. *J. Pharm. Pharmacol.* 1998, 50, 139—142.
45. Ciurczak, E. W. In *Proceedings of FACSS*, Philadelphia, 1985.
46. Aldridge, P. K.; Evans, C. L.; Ward, H. W., II; Colgan, S. T. Near-IR Detection of Polymorphism and Process-Related Substances. *Anal. Chem.* 1996, 68, 997—1002.
47. Gimet, R.; Luong, A. T. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1987, 5, 205.
48. Buchanan, B. R.; Ciurczak, E. W.; Grunke, A.; Honigs, D. E. *Spectroscopy* 1988, 3, 54.
49. Kamat, M.; Lodder, R. A.; DeLuca, P. P. Near-Infrared Spectroscopic Determination of Residual Moisture in Lyophilized Sucrose Through Intact Glass Vials. *Pharm. Res.* 1989, 6, 961—965.
50. Sinsheimer, J. E.; Poswalk, N. M. *Pharmaceutical Applications of the Near-Infrared Determination of Water*. *J. Pharm. Sci.* 1968, 57, 2007—2010.
51. Zhou, X.; Hines, P.; Borer, M. W. Moisture Determination in Hygroscopic Drug Substance by Near Infrared Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1998, 17 (2), 219—225.
52. Plugge, W.; Van Der Vlies, C. The Use of Near Infrared Spectroscopy in the Quality Control Laboratory of the Pharmaceutical Industry. *C. J. Pharm. Biomed. Anal.* 1992, 10, 797—803.
53. DeThomas, F. A.; VonBargen, K. P. System for Measuring the Moisture Content of Powder and Fiber Optic Probe Therefore, US Patent 931, 783, January 11, 1994.
54. Berntsson, O.; Zackrisson, G.; Ostling, G. Determination of Moisture in Hard Gelatin Capsules Using Near-Infrared Spectroscopy: Applications to At-Line Process Control of Pharmaceuticals. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1997, 15, 895—900.
55. Zhou, X.; Hines, P. A.; White, K. C.; Borer, M. W. Gas Chromatography as a Reference Method for Moisture Determination by Near Infrared Spectroscopy. *Anal. Chem.* 1998, 70, 390—394.
56. Corti, P.; Dreassi, E.; Corbini, G.; Lonardi, S.; Viviani, E.; Mosconi, L.; Bernuzzi, M. Application of Near Infrared Reflectance to the Analytical Control of Pharmaceuticals: Assay of Ranitidine Chlorhydrate and Water Content in Tablets. *Pharm. Acta Helv.* 1990, 65, 28—32.
57. Dziki, W.; Bauer, J. F.; Szpylman, J. J.; Quick, J. E.; Nichols, B. C. The Use of Near-Infrared Spectroscopy to Monitor the Mobility of Water Within the Sarafloxacin Crystal Lattice. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2000, 22, 829—848.
58. Martin, K. In Vivo Measurements of Water in Skin by Near Infrared Reflectance. *Appl. Spectrosc.* 1998, 52, 1001—1007.
59. Bradfield, K. B.; Forbes, R. A. Development and Validation of an Analytical Method for Identification of Granulated Nicarbazin by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1997, 5, 41—65.
60. Jedvert, I.; Josefson, M.; Langkilde, F. Quantification of an Active Substance in a Tablet by NIR and Raman Spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1998, 6, 279—289.
61. Han, S. M.; Faulkner, P. G. Determination of SB-216469-S During Tablet Production Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14, 1681—1689.
62. Eustaquio, A.; Graham, P.; Jee, R. D.; Moffatt, A. C.; Trafford, A. D. Quantification of Paracetamol in Intact Tablets Using Near-Infrared Transmittance Spectroscopy. *Analyst* 1998, 123 (11), 2303—2306.
63. Gottfries, J.; Depui, H.; Fransson, M.; Jongeneelen, M.; Josefson, M.; Langkilde, F. W.; Witte, D. T. Vibrational Spectrometry for the Assessment of Active Substance in Metoprolol Tablets; A Comparison Between Transmission and Diffuse Reflectance Near-Infrared Spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14, 1495—1503.
64. Ebube, N. K.; Thosar, S. S.; Roberts, R. A.; Kemper, M. S.; Rubinovitz, R.; Martin, D. L.; Reier, G. E.; Wheatley, T. A.; Shukla, A. J. Application of Near-Infrared Spectroscopy for Nondestructive Analysis of Avicel Powders and Tablets. *Pharm. Dev. Tech.* 1999, 4, 19—26.
65. North, N.; Young, K.; Leng, M. A Comparison Between NIR Diffuse Reflectance and Transmittance for the Analysis of Pharmaceutical Tablets, 8th FOSS/NIRSystems European Pharmaceutical User Group Meeting, SmithKline Beecham, Harlow, UK, October 1—8, 1997.
66. Merckle, P.; Kovar, K. A. Assay of Effervescent Tablets by Near-Infrared Spectroscopy in Transmittance and Reflectance Mode. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1998, 17 (3), 365—374.
67. Corti, P.; Ceramelli, G.; Dreassi, E.; Mattii, S. Near Infrared Transmittance Analysis for the Assay of Solid Phar-

- maceutical Dosage Forms. *Analyst* 1999, 124, 755—758.
68. Brashear, R. L.; Flanagan, D.; Luner, P. E.; Seyer, J. J.; Kemper, M. S. Diffuse Reflectance Near-Infrared Spectroscopy as a Nondestructive Analytical Technique for Polymer Implants. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88 (12), 1348—1353.
  69. Sondermann, N.; Kovar, K. A. Screening Experiments of Ecstasy Street Samples Using Near Infrared Spectroscopy. *For. Sci. Int.* 1999, 106, 147—156.
  70. Dempster, M. A.; Jones, J. A.; Last, I. R.; MacDonald, B. F. Near-Infrared Methods for the Identification of Tablets in Clinical Trial Supplies. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1993, 11, 1087—1092.
  71. Aldridge, P. K.; Mushinsky, R. F.; Andino, M. M.; Evans, C. L. Identification of Tablet Formulations Inside Blister Packages by Near-Infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 1994, 48, 1272—76.
  72. Lodder, R. A.; Selby, M.; Hieftje, G. M. Detection of Capsule Tampering by Near-Infrared Reflectance Analysis. *Anal. Chem.* 1987, 59, 1921—1930.
  73. Hearn, M. J.; Celi, P.; Chanyaputhipong, P. Y.; Chi, W.; Kang, J. O.; Katz, A.; Shah, R.; Thai, M.; Ung, P. Using Near Infrared Spectroscopy to Monitor the Preparation of Compounds for Screening as Antituberculosis Drugs. *J. Near Infrared Spectr.* 1995, 3, 19—23.
  74. Forbes, R. A.; Persinger, M. L.; Smith, D. R. Development and Validation of Analytical Methodology for Near-Infrared Conformance Testing of Pharmaceutical Intermediates. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 15, 315—327.
  75. Bauer, J. F.; Dziki, W.; Quick, J. E. Role of an Isomorphic Desolvate in Dissolution Failures of an Erythromycin Tablet Formulation. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88 (11), 1222—1227.
  76. Kirsch, J. D.; Drennen, J. K. Determination of Film-Coated Tablet Parameters by Near-Infrared Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1995, 13, 1273—1281.
  77. Morisseau, K. M.; Rhodes, C. T. Near-Infrared Spectroscopy as a Nondestructive Alternative to Conventional Tablet Hardness Testing. *Pharm. Res.* 1997, 14 (1), 108—111.
  78. Kirsch, J. D.; Drennen, J. K. Nondestructive Tablet Hardness Testing by Near-Infrared Spectroscopy: A New and Robust Spectral Best-Fit Algorithm. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1999, 19, 351—362.
  79. Guo, J. H.; Skinner, G. W.; Harcum, W. W.; Malone, J. P.; Weyer, L. G. Application of Near-Infrared Spectroscopy in the Pharmaceutical Solid Dosage Form. *Drug Dev. Indust. Pharm.* 1999, 25 (12), 1267—1270.
  80. Kirsch, J. D.; Drennen, J. K. Near-Infrared Spectroscopic Monitoring of the Film Coating Process. *Pharm. Res.* 1996, 13, 234—237.
  81. Kirsch, J. D.; Drennen, J. K. Determination of Film-Coated Tablet Parameters by NIR Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1995, 13, 1273—1281.
  82. Buchanan, B. R.; Baxter, M. A.; Chen, T. S.; Qin, X. Z.; Robinson, P. A. Use of Near-Infrared Spectroscopy to Evaluate an Active in a Film Coated Tablet. *Pharm. Res.* 1996, 13, 616—621, 1996.
  83. Drennen, J. K.; Lodder, R. A. Nondestructive Near-Infrared Analysis of Intact Tablets for Determination of Degradation Products. *J. Pharm. Sci.* 1990, 79, 622—627.
  84. Shimoyama, M.; Matsukawa, K.; Inoue, H.; Ninomiya, T.; Ozaki, Y. Non-Destructive Analysis of Photo-Degradation of Poly (Methyl Methacrylate) by Near Infrared Light-Fibre Spectroscopy and Chemometrics. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1999, 7, 27—32.
  85. Wargo, D. J.; Drennen, J. K. Near-Infrared Spectroscopic Characterization of Pharmaceutical Powder Blends. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14 (8), 1415—1423.
  86. Aldridge, P. K. Pfizer, Inc. Apparatus for Mixing and Detecting On-Line Homogeneity. *European Patent Publication* 1993, A1, 631—810.
  87. Sekulic, S. S.; Ward, H. W.; Brannegan, D. R.; Stanley, E. D.; Evans, C. L.; Sciavolino, S. T.; Hailey, P. A.; Aldridge, P. K. On-Line Monitoring of Powder Blend Homogeneity by Near-Infrared Spectroscopy. *Anal. Chem.* 1996, 68 (3), 509—513.
  88. DeMaesschalck, R.; Sanchez, F. C.; Massart, D. L.; Doherty, P.; Hailey, P. A. On-Line Monitoring of Powder Blending with Near-Infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 1998, 52 (5), 725—731.
  89. Richmond, E. W.; Buchanan, B. R.; Baxter, M. A.; Duff, A.; Tully, O. M.; Thornton, S. A. Method and System for Determining the Homogeneity of Tablets, *US Patent* 296, 833; April 2, 1996.
  90. Williams, P., Norris, K., Eds. *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN, 1987.
  91. Burns, D. A.; Ciurczak, E. W., Eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*, Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992.

(唐海霞 译)

## J

## 经皮给药中的超声促渗

Samir S. Mitragotri

University of California, Santa Barbara, California, U. S. A.

Hua Tang

Daniel Blankschtein

Robert Langer

Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, U. S. A.

## 经皮给药

角质层 (SC) 是皮肤的最外层<sup>[1]</sup>, 由于角质层的存在, 药物经皮给药达到全身或局部吸收受到了限制。角质层由含角质纤维和水的盘状死细胞 (角质细胞) 组成, 它们被致密的脂质双层所包围。高度有序的脂质双层结构使角质层的渗透性非常低。现已有一系列途径来增强药物的透皮转运, 包括: ①使用化学物质来改变皮肤的结构或者增加透皮贴剂中药物的浓度<sup>[2,3]</sup>; ②施加电场产生瞬时的转运通道 (电致孔)<sup>[4,5]</sup> 或者提高带电荷药物通过皮肤的迁移率 (离子导入法)<sup>[6]</sup>; ③应用超声技术 (超声促渗)<sup>[7~56]</sup>。

Fellinger 和他的同事在半个世纪之前就通过超声促渗来增强药物的透皮转运<sup>[16]</sup>, 他们证实使用超声波可以促进氢化可的松透过皮肤。接着又对至少 15 种药物进行了增加透皮转运的研究, 这些药物包括氢化可的松、地塞米松等甾体抗炎药, 水杨酸酯和布洛芬等非甾体抗炎药, 麻醉药利多卡因和蛋白质胰岛素等。本文回顾了这方面的研究, 并着重阐述了相关的技术、机理的研究以及安全性问题。

## 超声技术在超声促渗领域的产生及应用

## 1. 超声的产生

超声是一种频率在 20kHz 以上的声波<sup>[57,58]</sup>, 这些声波由两个主要的参数定性: 频率和振幅。振幅可以用峰值波压 (单位为帕) 表示, 或者用强度 (单位为 W/cm<sup>2</sup>) 表示。超声可以持续使用或者以脉冲的方式应用。在脉冲超声中还需要一个参数, 工作周期, 来定性。工作周期是使用超声的时间分数。

超声是通过超声仪产生的。超声仪由一个可以设定频率和波长产生交流信号的电信号发生器组成, 将信号通过压电晶体 (换能器) 产生超声波。要精心挑选压电晶体的厚度, 使它能够在使用的频率中共振。频率在 20kHz~3MHz 之间的超声仪可以从市场上买到并用于超声促渗。

如果市场上没有所需频率的超声仪, 则可以使用市场上有的信号发生器、放大器和换能器来组装。Bommannan

和他的同事已经组装成频率在 10MHz~16MHz 的超声仪<sup>[11]</sup>。(文献 [11] 详细讨论了定制一台超声仪的相关事宜)

使用超声转运, 药物须能溶解在溶剂中并且可以应用于皮肤。使用超声仪时通过耦合剂将换能器和皮肤连接起来以保证适当的接触 (见图 1A~C)。这种介质可以和溶剂一起溶解药物, 也可以是市场上已有的超声偶联胶 (比如 Aquasonic)。

## 2. 超声从换能器到皮肤的传输

## 2.1 介质中的传输

超声在从换能器到预定组织的传输中需要一种耦合剂。耦合剂可以使得超声能在换能器和皮肤之间适当传输。耦合剂的传输性质可以用声阻抗 (Z) 来描述。如果耦合剂的声阻抗与皮肤的声阻抗 ( $1.6 \times 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) 相当, 就可以用作超声促渗的耦合剂。可以查到多种材料的 Z 值<sup>[57,58]</sup>。比如水的 Z 值为  $1 \times 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , 所以水是合适的耦合剂。表 1 列出了一些材料的 Z 值。

表 1 材料的声阻抗和吸收系数

材料	声阻抗 Z /(kg · m <sup>2</sup> / s)	频率为 1MHz 时吸收系数 α
水	$1.5 \times 10^6$	0.0006
血液	$1.6 \times 10^6$	0.028
骨骼	$6.3 \times 10^6$	3.22
皮肤	$1.6 \times 10^6$	0.62
脂肪组织	$1.54 \times 10^6$	0.14
肌肉	$1.6 \times 10^6$	0.76
空气	$0.0004 \times 10^6$	2.76

注: 表中数据源于 Hoogland, R., Ultrasound Therapy; Emal Nonius; Delft, Holland, 1986。

## 2.2 超声吸收

每一种溶剂都在一定程度上吸收超声。溶剂吸收超声的能力用吸收常数 α 描述。下面的方程描述了吸收的程度:



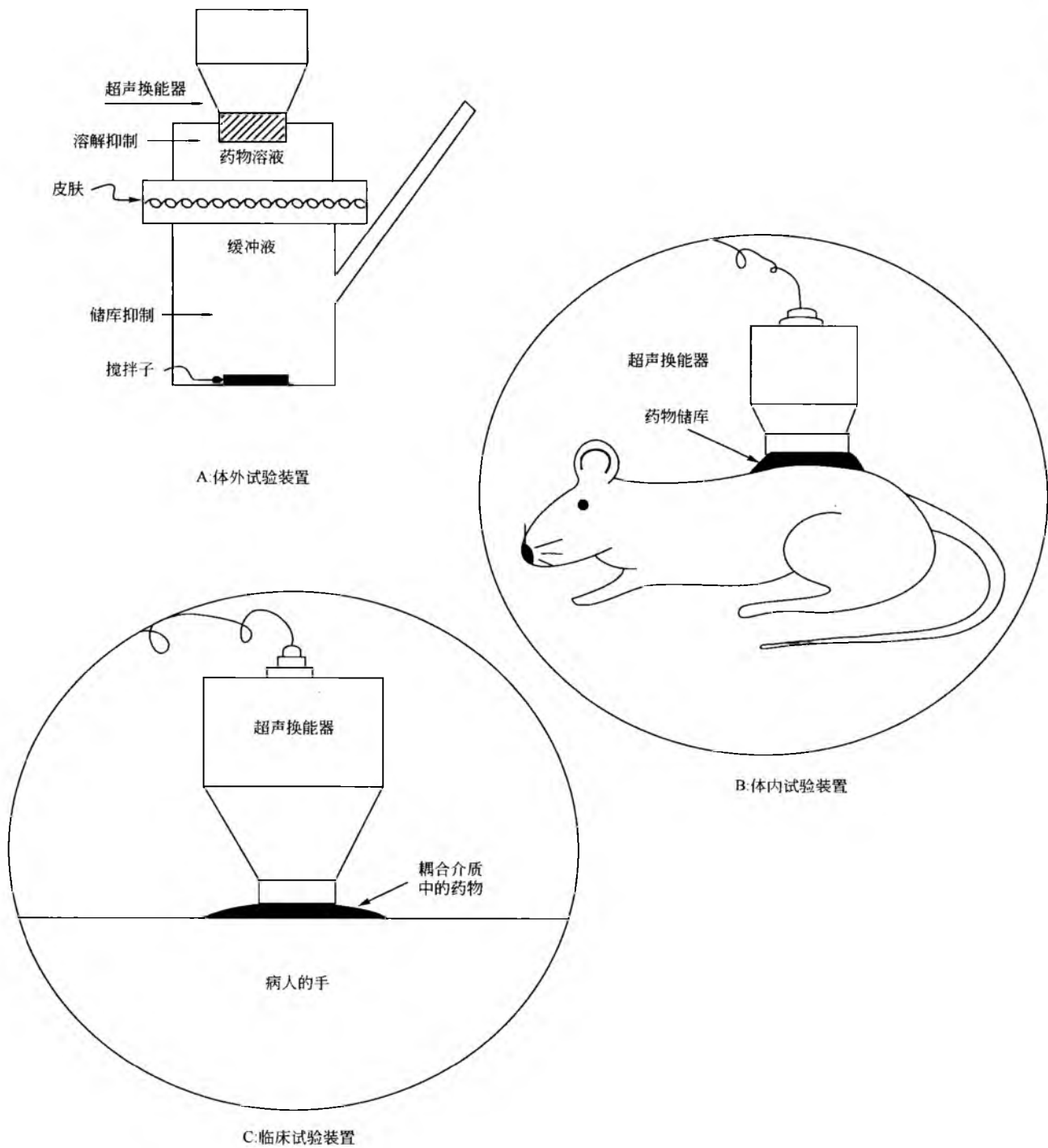


图1 超声促渗的试验装置

$$f(\tau) = 1 - \exp(-\alpha\tau)$$

式中,  $f(\tau)$  是吸收常数为  $\alpha$ 、厚度为  $\tau$  时超声波束在耦合剂中传播时被吸收的一部分超声强度。文献 [57, 58] 列出了一些在不同超声频率时不同超声材料的 ( $\alpha$ ) 值。在水中, 当超声频率是 1 MHz 时,  $\alpha$  值为 0.0006, 表明 1cm 厚的水层吸收的超声 (1 MHz) 强度小于 0.1%, 即水是合理

的耦合剂。表 1 中列出了几种耦合剂的吸收系数。

### 2.3 超声反射

超声在两个声阻抗不同的介质界面发生反射。当超声束从任一侧偶然投到空气-水界面时, 99.99% 的超声会在界面处发生反射。因此为避免发生超声反射, 就必须使溶

剂中的空气泡最少。不同界面的反射常数可以根据形成界面的介质的声阻抗用方程估算<sup>[57,58]</sup>。

### 3. 超声参数的选择

为了达到安全有效的超声促渗，必须正确地选择超声参数。频率、强度、工作周期，以及换能器和皮肤之间距离等超声参数都会影响超声促渗的效率。下面我们将讨论多种超声参数在超声促渗中的作用。必须注意到，讨论的目的不是为了提出有待选择的参数的确切值，而是指出各个参数对超声促渗的影响。

#### 3.1 超声频率

频率为 20kHz~16MHz 范围内的超声波都可以用来进行做超声促渗。根据使用的超声频率可以将超声促渗的研

究分为三类，即治疗的、高频和低频超声。

治疗频率的超声（1~3MHz）：这是超声促渗方面最常使用的超声频率。值得注意的是，以前关于超声促渗的研究中，超过 90% 都是使用治疗频率的超声波。表 2 对这些研究作了总结。有趣的是，在 1~3MHz 的治疗频率中，使用约 1 MHz 频率的更多一些。没有人对研究人员偏好使用这一频率做出过解释。Mitragotri 和他的同事<sup>[36]</sup>报道，在治疗频率范围内，超声促渗的增强程度与超声频率呈反比。他们发现 1 MHz 的超声可以使雌二醇在体外的人体皮肤的经皮转运达到原来的 13 倍，而同等强度的 3 MHz 的超声只能增强到 1.5 倍。他们进一步假设这种超声频率与超声促渗的反向变化主要是由空化效应引起的<sup>[37,59]</sup>，空化效应与超声频率成反比，并对超声促渗起着主要作用。

表 2 文献报道的治疗用超声促渗

药物	分子质量/Da	实验模型	超声条件	实验结果 <sup>1)</sup>	文献
咖啡因	194	人皮肤体外实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	0.2±0.4	[37]
		裸鼠皮肤体外实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	1	[37]
皮质酮	346	人皮肤体外实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	3±0.6	[37]
地塞米松	392	猪	1MHz, 1.5W/cm <sup>2</sup>	显著增加	
雌二醇	272	人皮肤体外实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	12±1.5	[37]
氟轻松	452	人皮肤体内实验	1MHz, 2W/cm	显著增加	[35]
		狗	1MHz, 0.3~1W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[42]
		人皮肤体内实验	1MHz, 最高至 2W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[42]
氢化可的松	362	人皮肤体内实验	1MHz, 最高至 3W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[42]
		人皮肤体内实验	1MHz, 1.5W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[42]
		猪	1MHz, 1.5W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[42]
		猪	1MHz, 最高至 3W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[42]
吡啶美辛	357	大鼠	1MHz, 0.75W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[40]
利多卡因	234	人皮肤体内实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	0.1±0.6 <sup>2)</sup>	
		人皮肤体内实验	1MHz, 0.25W/cm <sup>2</sup>	没有增加	[8]
		人皮肤体内实验	1—3MHz, 1.5W/cm <sup>2</sup>	没有增加	[53]
保泰松	308	人皮肤体内实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[13]
毒扁豆碱	275	裸鼠皮肤体外实验	1MHz, 3W/cm <sup>2</sup>	显著增加	[32]
黄体酮	274	人皮肤体外实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	0.1±0.5	[37]
水杨酸盐	138	人皮肤体内实验	1MHz, 1.5W/cm <sup>2</sup>	没有显著增加	[15]
		人皮肤体内实验	1MHz, 1.5W/cm <sup>2</sup>	没有显著增加	[14]
睾酮	288	人皮肤体外实验	1MHz, 2W/cm <sup>2</sup>	4±1.1	[37]

1) 根据超声促渗透过量与普通被动扩散的比值，实验结论为具有统计意义的显著差异或者无显著差异。

2) 源自 J. Kost and R. Langer. 未发表的实验数据。

高频超声（超过 3MHz）：Bommanan 和他的同事<sup>[11,12]</sup>利用高频超声波（ $f=2, 10$ ，频率为 16MHz）研究了裸鼠体内的用镭示踪的水杨酸超声促渗（表 3）。他们研究了高

频区超声促渗和超声频率的关系，发现在增强水杨酸的透皮转运方面，10MHz 的超声比 16MHz 更加有效，也比 2MHz 有效得多。他们认为在高频区的超声促渗效果直接

随频率的变化而改变。但在 10MHz 的超声频率下由于换能器的运转效率高, 所以促渗效果最好。

表 3 文献报道的高频超声

药物	分子量/Da	实验模型	超声条件	实验结果 <sup>1)</sup>	文献
水杨酸	138	裸鼠体内实验	2, 10 和 16 MHz 200mW/cm <sup>2</sup>	2~4 倍透皮增加	[11]
示踪元素钬	—	裸鼠体内实验	10 和 16 MHz 200mW/cm <sup>2</sup>	显著增加	[12]

1) 实验结论为具有统计意义的显著差异或者无显著差异。

低频超声 (低于 1MHz): Tachibana 和他的同事曾报道使用低频超声 (48kHz) 增强利多卡因和胰岛素在裸鼠皮肤的透皮转运<sup>[52,53]</sup>。Mitragotri 和他的同事曾使用频率很低的超声体内促进许多小分子药物透过人体皮肤的转运, 比如水杨酸、皮质酮, 同时也进行了大分子蛋白质药物转运的研究, 比如胰岛素、 $\gamma$ -干扰素、促红细胞生成素。他们研究了低频区超声促渗与频率的关系, 使用了 20kHz 和 40kHz 两个超声频率, 发现由 20kHz 引起的水杨酸的超声促渗透过量是 40kHz 的 7 倍。人们假设超声促渗与超声频率的反向关系是由空化效应与超声频率的反向关系引起的<sup>[59]</sup>。

### 3.2 超声强度

人们使用了 0.1~2W/cm<sup>2</sup> 不同强度的超声波进行超声促渗。大部分情况下, 热效应限制了更高超声强度的应用。人们就超声强度对超声促渗的影响也做了一些研究。Miyazaki 和他的同事<sup>[41]</sup>发现超声促渗下 (治疗条件) 透过裸鼠皮肤进入血浆的吡啶美辛浓度与超声强度有关。尤其值得关注的是超声促渗 (0.25W/cm<sup>2</sup>) 3 个小时后吡啶美辛的血浆浓度是对照组的 3 倍。但是增加超声强度至原来的 3 倍 (0.75W/cm<sup>2</sup>), 超声促渗的强度却只增加了 33%。Mortimer 和他的同事<sup>[42]</sup>发现, 应用 1W/cm<sup>2</sup> 的超声, 氧的经皮转运增加了 40%, 而 1.5W/cm<sup>2</sup> 和 2W/cm<sup>2</sup> 时分别增加了 50% 和 55%。

在超声的超低频区 (20kHz), Mitragotri 和他的同事<sup>[37]</sup>报道称, 当超声强度从 12.5W/cm<sup>2</sup> 增加到 125W/cm<sup>2</sup> 时, 体外人皮肤对胰岛素的渗透性增加了 100 多倍。超声促渗时皮肤渗透性随超声强度的变化完全不同于上文提到的因治疗频率所发生的变化。

### 3.3 脉冲宽度

超声可以持续使用, 也可以脉冲式使用。脉冲式超声得到了广泛的使用, 因为它降低了严重的超声副作用, 如热效应等。然而, 脉冲式超声可能对超声促渗的效率有很大的影响。如稍后将讨论的那样, 对超声促渗有决定作用的空化效应随脉冲宽度的不同而有很大的变化。比如在水溶液中, 使用 1MHz 的超声, 当连续式超声变为脉冲宽度为每 10ms 脉冲 1ms 时, 发生空化效应的阈值从 0.3W/cm<sup>2</sup><sup>[60]</sup>变为 33W/cm<sup>2</sup><sup>[61]</sup>。这是因为在脉冲式超声下, 当处

于两个脉冲之间的时间段时, 在前一个脉冲形成的气核有足够的时间重新溶解于溶液, 所以难以使溶液空化<sup>[62]</sup>。Mitragotri 和他的同事<sup>[63]</sup>报道称应用连续的治疗频率的超声 (1MHz, 2W/cm<sup>2</sup>) 可以增强雌二醇对人体皮肤的渗透性达 13 倍, 而同样频率和强度的脉冲式超声 (2ms/10ms) 并不能显著地增加雌二醇的透皮量。Kost 和他的同事<sup>[28]</sup>报道称在超低频的超声区, 当超声 (20kHz) 的脉冲宽度从 100ms/s 变化到 400ms/s 时, 尿素对铜纺膜的渗透性从 6% 增加到 56%。

### 3.4 换能器和皮肤的距离

换能器附近的超声压 (强度) 非常复杂。在换能器附近, 超声强度经历了一系列的最大值和最小值, 而距换能器一定距离后, 超声强度随距离的增大而变小。超声强度经历了一系列最大值和最小值的区域被称为近场, 而近场以外的区域被称为远场。频率为 1MHz 且表面积为 1cm<sup>2</sup> 的换能器的近场长度为 1.66cm<sup>[57]</sup>。在文献所报道的大多数使用 1MHz 及以上频率的超声实验中, 换能器和皮肤的距离往往小于 1.66cm。因此在所有报道过的实验中, 皮肤都处于近场。Julian 和她的同事<sup>[23]</sup>研究过在超低频的超声区, 低频条件下换能器的距离对苯甲酸通过聚二甲基硅氧烷膜的影响。他们发现使用 20MHz 超声时, 膜的渗透性与超声器和膜之间的距离无关。这可能是因为超声波在扩散细胞的连续反射使得扩散细胞中没有形成系统压力模式。

### 3.5 超声能量剂量

最近 Mitragotri 等研究了频率为 20kHz 时, 超声参数对超声促渗的影响, 结果显示超声促渗的效果与超声强度和超声持续时间线性相关 (对脉冲超声来说, 超声持续时间为超声应用总时间乘以工作周期), 而与工作周期无关。根据这些发现, 作者认为对于超声引起的透皮促渗, 有一个超声能量剂量的阈值。一旦超过了阈值, 药物的透过量与超声能量剂量 (J/cm<sup>2</sup>), 即超声强度和持续时间的乘积, 呈线性关系。这个结果显示超声能量剂量可作为 20kHz 超声促渗效果的预测值。作者认为重要的是确定每个超声条件下的超声能量剂量阈值, 例如, 在体内条件下, 随着不同的系统而变化。而且可能随着不同的皮肤模型、超声频率和转换器离皮肤的距离而变化。

## J

## 超声促渗的研究

在过去的40年中,对超声促渗进行了大量的研究。如上所述,这些研究可以分为三类:治疗频率、高频及低频超声。

### 1. 治疗频率的超声

治疗频率超声的范围为1~3MHz,超声强度为0~2W/cm<sup>2</sup>。已经对15种以上的药物进行过超声促渗<sup>[7~10,14,15,18~22,25,22,27,28,30~33,36,33,42~45,47~50,55,56,63]</sup>,如表2所示。

以前人们通常认为透皮途径只是局部用药而不是全身用药,因此相应的,在表2中的大部分药物都是局部给药,在所有用于超声促渗的药物中,绝大部分是抗炎药,包括甾体抗炎药,如氢化可的松、地塞米松,或非甾体抗炎药,如利多卡因和水杨酸。对这些药物的超声促渗使得它们能够到达组织深部,这是消极的局部输送所无法比拟的。Griffin等<sup>[18]</sup>报道了应用超声(1MHz,2W/cm<sup>2</sup>)使得氢化可的松渗入猪的组织内部5cm,超声促渗的特性使得研究人员可以将氢化可的松有效送达关节部位,以便治疗类风湿性关节炎。

在这些研究中,最常用的方法是将氢化可的松做成软膏剂,涂抹在皮肤上,然后将传感器贴在软膏上进行超声促渗。在某些情况下,传感器以弧形移动,以避免超声一直作用在同一皮肤区域。尽管这些研究使用不同的皮肤模型、应用方法、药物浓度和超声时间,但对氢化可的松的透皮促渗效果都很显著。对比而言,利多卡因和水杨酸的超声促渗的效果就较为一般。以利多卡因为例,用缩短麻醉的起效时间和延长麻醉的持续时间来衡量超声促渗效果。大多数情况下,超声的效果并不显著。同样地,对水杨酸软膏的超声促渗也未引起血液浓度的显著增加<sup>[14]</sup>。

表2的文献数据表明除了甾醇,如氢化可的松、地塞米松、睾酮、雌二醇、皮质酮外,治疗用超声对其他药物并没有显著的促渗作用。Mitragotri等<sup>[36]</sup>提出了一个假设来解释超声对不同药物的不同促渗作用,即超声破坏了角质层的脂质双层结构,从而增加了药物在角质层的透过性。这个机理

说明了甾体类药物,其被动透过完整角质层扩散系数很低,难以与透过被破坏的角质层扩散系数相比,通过超声促渗后,透过量显著增加。另一方面,利多卡因和水杨酸等药物,其被动扩散与经过破坏的角质层扩散相当,通过超声促渗后,透过量没有显著增加。有人归纳了一个数学方程<sup>[39]</sup>来预测是否1MHz,2W/cm<sup>2</sup>的超声能增加该药物的透过量:

$$E \approx \frac{K_{o/w}^{0.75}}{4 \times 10^4 P}$$

式中, $E$ 为超声促渗的增加量(无量纲); $K_{o/w}$ 为药物的油水分配系数; $P$ 为药物的被动渗透系数,cm/h,每个药物的 $K_{o/w}$ 和 $P$ 值分别可以在文献[64,65]上找到。

在过去的20年里,透皮给药被认为是全身给药的一种途径。在此期间,超声被用来增加药物的透过。Levy等<sup>[30]</sup>的裸鼠体内实验表明将甘露醇和毒扁豆碱超声(1MHz,1.5W/cm<sup>2</sup>)3~5min,透过量增大15倍。还有报道说超声促渗后透皮的时滞完全消除了<sup>[30]</sup>。

尽管对治疗用超声的促渗做了不少尝试,但增加的药物透过量一般不超过10倍。这样的促渗效果对有些药物如氢化可的松有效,但对许多全身给药的药物尚显不足。虽然超声促渗引起了很多关注,但目前还没有全身治疗用的超声促渗产品上市。

### 2. 低频超声促渗

人们对这个区域的超声促渗关注较少(表4)。Tachibana和Tachibana<sup>[51~53]</sup>报道了裸鼠的体内实验中应用低频超声(48kHz),增加了利多卡因和胰岛素的透皮量。他们将裸鼠放在一个充满胰岛素(20U/mL)溶液的烧杯中超声(48kHz,5000Pa),在240min内血糖浓度下降50%<sup>[51]</sup>。他们还发现了在相似的情况下应用超声促渗延长了利多卡因对裸鼠的麻醉时间<sup>[53]</sup>并增加了家兔对胰岛素的透皮吸收<sup>[52]</sup>。Mitragotri等<sup>[37,38]</sup>报道了在人体皮肤的体外实验中,低频超声(20kHz)对各种低分子质量药物的促渗,如皮质酮和水杨酸,还有大分子质量的药物如胰岛素、 $\gamma$ -干扰素,促红细胞生成素<sup>[37]</sup>。表4总结了低频超声的文献。

表4 文献报道的低频超声

药物	分子质量/Da	实验模型	超声条件	实验结果 <sup>1)</sup>	文献
皮质酮	346	人皮肤体外实验	20MHz, 125mW/cm <sup>2</sup>	80	[38]
雌二醇	272	人皮肤体外实验	20MHz, 125mW/cm <sup>2</sup>	3	[38]
水杨酸	138	人皮肤体外实验	20MHz, 125mW/cm <sup>2</sup>	400	[38]
醛甾酮	360	裸鼠体外实验	20MHz, 125mW/cm <sup>2</sup>	1400	[38]
水	18	人皮肤体外实验	20MHz, 125mW/cm <sup>2</sup>	113	[38]
利多卡因	234	大鼠皮肤体内实验	48MHz	显著增加	[53]
胰岛素	6000	人皮肤体外实验	20MHz, 最大至 225mW/cm <sup>2</sup>	显著增加	[52]
		大鼠皮肤体内实验			
胰岛素	6000	大鼠皮肤	48MHz	显著增加	[37]
$\gamma$ -干扰素	17000	人皮肤体外实验	20MHz, 最大至 225mW/cm <sup>2</sup>	显著增加	[37]
		大鼠皮肤体内实验			
促红细胞生成素	48000	人皮肤体外实验	20MHz, 最大至 225mW/cm <sup>2</sup>	显著增加	[37]
		大鼠皮肤体内实验			

1) 根据超声促渗的透过量与普通被动扩散的比值,实验结论为具有统计意义的显著差异或者无显著差异。

低频超声引起的透皮吸收的增加大大高于治疗用超声引起的促渗作用。例如治疗用超声对利多卡因没有明显的促渗作用,而低频超声对其有显著的促渗效果。Mitragotri等<sup>[38]</sup>定量的对比了四种物质,丁醇、皮质酮、水杨酸和蔗糖的治疗用超声(1MHz, W/cm<sup>2</sup>, 连续)和低频超声(20kHz, 125 mW/cm<sup>2</sup>, 100 ms/s)的促渗比(超声促渗和被动扩散的体外透过量之比)。他们发现低频超声的促渗效果是治疗用超声促渗效果的1000倍<sup>[38]</sup>。

低频超声可以促进被动扩散无法透过的药物的透皮吸收,例如大分子质量的蛋白质。低频超声(20kHz, 125 mW/cm<sup>2</sup>, 100 ms/s)的应用可以促进胰岛素、 $\gamma$ -干扰素、促红细胞生成素的人体外透皮吸收<sup>[37]</sup>。图2显示胰岛素的透皮效果随着超声的强度(20kHz, 100ms/s)而变化。当强度从12.5mW/cm<sup>2</sup>变化至125mW/cm<sup>2</sup>时,胰岛素的透

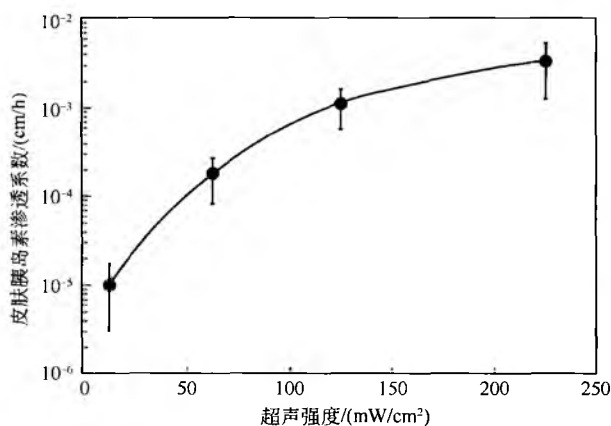


图2 胰岛素透过人体皮肤<sup>[37]</sup>

### 3. 高频超声

这部分超声对应的频率在3MHz以上。Bommanan等<sup>[11]</sup>假设皮肤的吸收系数随着超声的频率而变。高频超声的能量可以更多地集中在皮肤的表层,增加了经皮吸收。为了验证这种假设,他们用豚鼠进行了水杨酸(溶解在凝胶中)透皮的高频超声(2~15 MHz)体内实验。他们发现应用2MHz的超声(0.2W/cm<sup>2</sup>)20min后,水杨酸的透皮吸收并没有显著的增加。然而当其他条件不变时,用10MHz的超声产生了4倍的透皮吸收,用16MHz的超声产生了2.5倍的吸收<sup>[11]</sup>。他们还考察了较短的超声时间(5min)对透皮转运的影响。10MHz的超声产生了1.6倍的吸收,而16MHz的超声产生了1.8倍的透皮吸收。高频超声的应用还能减少透皮吸收的时滞。Bommanan等<sup>[11]</sup>发现,比起被动扩散,超声促渗可以使得水杨酸在尿样中很快出现。研究人员发现高电子密度的示踪元素镧在超声促渗5min后,可以渗入到皮肤真皮层中。

皮效果增强了100倍。将充满胰岛素溶液(100U/mL)的容器粘在裸大鼠的背上,在上述条件的超声促渗下,裸大鼠体内的胰岛素可以达到治疗浓度<sup>[37]</sup>。图3显示了经胰岛素超声治疗的糖尿病大鼠的血糖浓度,胰岛素超声治疗(20kHz, 225mW/cm<sup>2</sup>, 100 ms/s)可以在30min内将糖尿病裸大鼠的血糖浓度从400mg/dL降到200mg/dL(正常大鼠的血糖浓度)。超声促渗中可以观察到血浆中相应的胰岛素浓度的变化。正常的裸大鼠血浆中胰岛素的含量为101±31pmol,但糖尿病大鼠体内的胰岛素含量在检测限(34pmol)以下。超声促渗后,人胰岛素在大鼠体内的浓度30min后达到77(±28)pmol,1h后达到178(±84)pmol<sup>[37]</sup>。而大鼠的内源性胰岛素并没有明显的增加。这个结果说明了在20kHz超声促渗下,胰岛素透皮转运能达到治疗剂量。

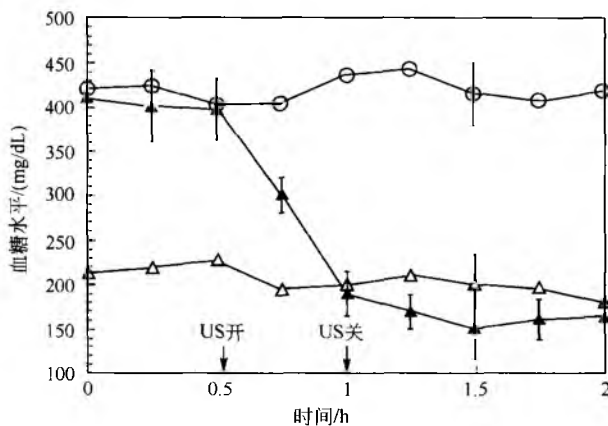


图3 大鼠的血糖水平。○糖尿病裸大鼠;△正常大鼠;▲经胰岛素超声促渗30min后的糖尿病裸大鼠

## 超声促渗的机理

为了理解超声促渗的机理,需要了解超声对人体组织的影响,因为其中的一个或多个因素可能有助于促渗机理的形成。超声引起的各种生物效果如下文所述。

### 1. 暴露效应

#### 1.1 热效应

超声的应用可能会引起介质温度的升高。有较高超声吸收系数的组织如骨骼,比起较低超声吸收系数如肌肉,会经受较强的热效应。各种生物组织的超声吸收系数如表1所示<sup>[60, 66]</sup>。介质的吸收系数随着超声频率的提高而提高,说明超声的热效应与频率成正比。相同的超声频率下,介质温度的升高与超声的强度和超声时间相关。通过使用脉冲超声,可以大大降低热效应,文献[60]详细讨论了超声的热效应。

## 1.2 声冲流

声冲流,顾名思义,是在超声波的影响下产生的与时间无关的大量快速的流体。声冲流产生的原因是声波传播过程中反射和折射的结果。空化气泡的振动效应也会产生声冲流。声冲流带来的剪切力也会对周围的结构产生影响<sup>[67]</sup>。

## 1.3 空化效应

空化效应是在超声波的作用下,在介质中形成的气体空腔,空化效应的形成是因为超声引起了介质压力的变化,空化效应包括气泡的快速生成和消亡(瞬时空化),或气泡在超声介质中的缓慢振动(稳态空化)。空化效应对组织有几个方面的影响。尤其是当气泡破裂时,释放的冲击波可能会影响周围组织的结构。生物组织的纤维结构中包含许多的空腔,可以作为超声后的空化效应的核心<sup>[60]</sup>,空化效应与超声的频率成反比与超声的强度成正比。人们特别关注上述哪一种情况在超声促渗中起主导作用。

## 2. 治疗用超声促渗的机理

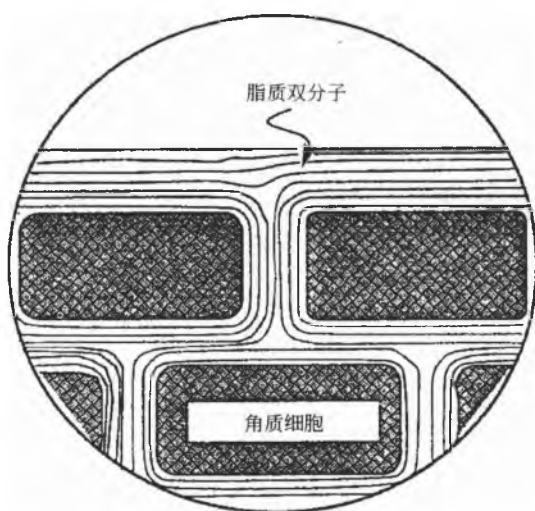
Mortimer 等<sup>[42]</sup>进行了蛙皮的体外超声透氧实验。他们发现超声促渗的效果取决于超声强度,而不是压力的振幅。根据观察,他们认为超声的促渗效果不是空化效应所致,而是在皮肤周围的声冲流引起的<sup>[42]</sup>。Levy 等<sup>[30]</sup>进行了尿素体外透过聚合膜的实验,考察了热效应、空化效应及两者的结合对促渗的影响。他们发现促渗的效果不能用热效应或混合效应来解释,为了解释空化效应的作用,他们用除气的溶液进行了超声促渗实验。因为脱气的溶液会减少溶液中的空化效应,如果观察到促渗效果的减弱,那就是空化效应引起的促渗。实际上,他们发现脱气,减少了2倍的透过量,说明了空化效应在超声促渗中确实是起作用的。

空化效应可以发生在哺乳动物的诸多组织中,包括肌肉,腹部组织,脑部,心血管组织和肺部<sup>[60]</sup>。如同前面介绍的,空化效应的产生是由于存在大量的气体核心。这些核心是存在于胞内和胞间结构的气囊。Simonin 等<sup>[68]</sup>认为空化效应发生在皮肤的滤泡中,通过滤泡的对流作用增加了透皮转运的效果。但是没有实验数据来证明这个假设。Mitragotri 等<sup>[36]</sup>的实验结果表明,皮肤内的空化效应在治疗用的超声促渗中起着至关重要的作用。

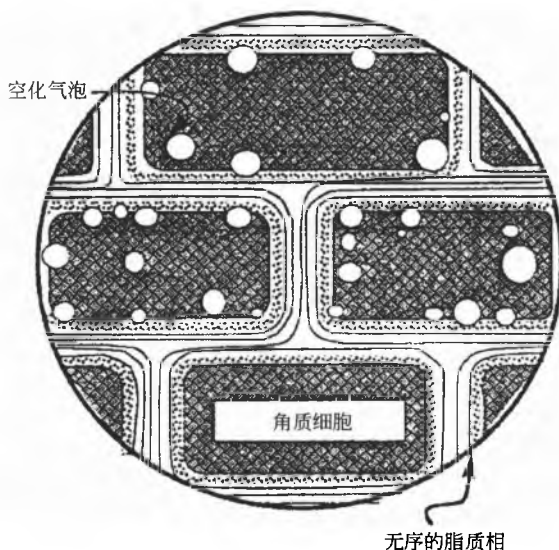
在第一组实验中,利用了已知的静压力对空化效应的影响,空化效应在液体和多孔的介质中可以被高压抑制<sup>[21]</sup>,这是由于气核在压力下的溶化和破裂。超声促渗实验所用的皮肤是在 30atm 下压缩得到的(实验前夹在两个光滑的玻璃板间,在 30atm 下浸没在水中 2h)。他们发现,应用超声(1MHz, 2W/cm<sup>2</sup>, 连续的),透过正常人体皮肤的雌二醇增加了 13 倍,而对于被挤压的皮肤仅仅增加了 1.75 倍。

在第二组实验中,透皮实验之前,经热分离的人体皮肤在 0.05 mmHg 压力下脱气。作者认为将浸泡在缓冲液中的皮肤组织置于高真空状态下,低压减少了缓冲液中空气的浓度,因此使得小气泡在皮肤中消失。当脱气的皮肤暴露于超声中时,再次证明超声促渗雌二醇的效果最低(1.5 倍),而正常皮肤的超声效果可达到 13 倍。基于这两个结果,作者认为皮肤中的空化效应在超声促渗中起到了关键的作用。他们提出以下假设来解释超声促渗的机理。

医疗用频率范围的超声会引起角质层中角质化细胞的空化效应,靠近角质化细胞-脂质双层界面,由超声介导的气泡的振动,会引发脂质双层的振动。因此导致了整个角质层脂质结构的变动(图4)。而在角质化细胞和脂质双层间空化气泡的破裂所产生的冲击能量也是引起脂质结构变化的原因之一。



正常角质层



治疗超声促渗中的角质层

图4 超声在角质层中引起空化气泡

因为透过脂质结构被破坏的皮肤的药量要明显高于正常皮肤的, 超声透皮转运明显高于被动的透皮转运。

### 3. 低频超声促渗的机理

因为在液体中的空化效应与超声频率成反比<sup>[59]</sup>, 在低频超声促渗中, 空化效应可能起着更为重要的作用。Tachibana 等<sup>[63]</sup>认为应用低频超声会在皮肤的汗腺和毛孔上引起声冲流, 导致了透皮转运的增加。Mitragotri 等<sup>[38]</sup>认为低频超声促渗更多的发生在角质细胞而不是毛孔, 他

们为低频超声高效促渗提出以下假设。

低频超声介导的空化效应导致了角质层脂质结构的破坏, 而且空化气泡的振动可能使得大量水进入结构被破坏的脂质区域。这有可能在角质层细胞间的脂质中形成亲水通道, 使得药物能通过(图5)。比起被动转运, 通过脂质中亲水通道的透皮转运会更有效。因为: ①亲水通道中, 药物在水中的渗透系数比在规则的脂质双分子层中的渗透系数要高上 1000 倍; ②亲水通道的长度比被动扩散中经过的曲折的细胞间脂质的通道短得多(最多为 25 倍)<sup>[69]</sup>。

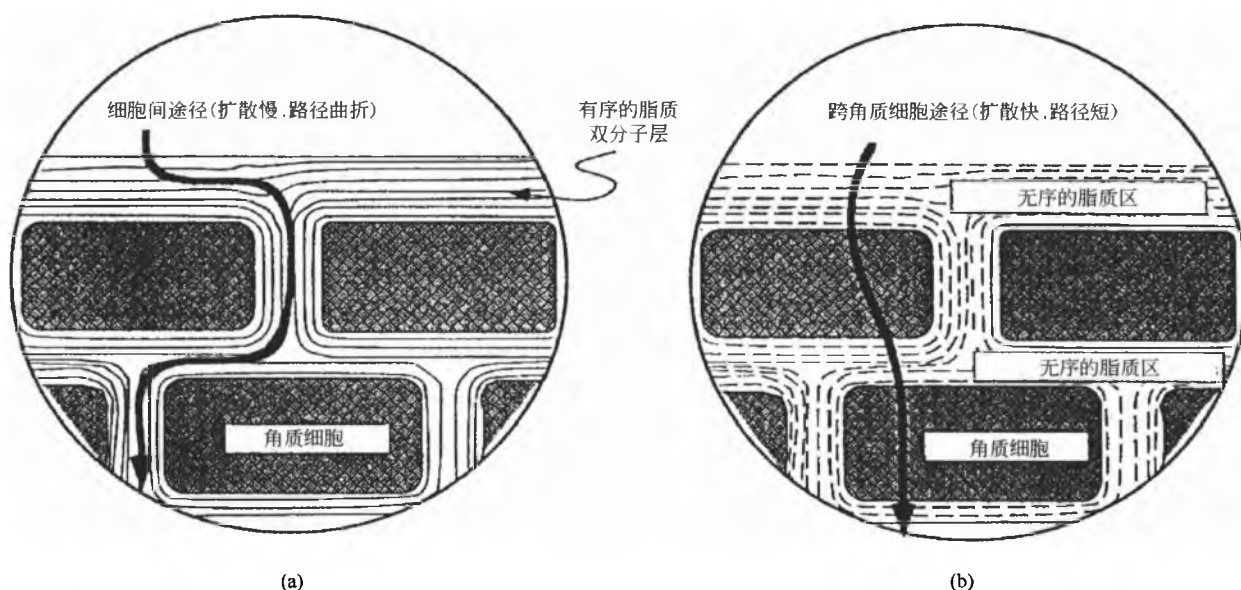


图5 角质层的跨膜转运。(a) 被动扩散; (b) 低频超声促渗

这个假设也解释了为何低频超声能够促渗那些被动扩散很差的药物。该类药物或者是水溶性的, 很难进入角质层中的脂质双分子层; 或者相对分子质量很大(如蛋白质), 这减小了其在角质层的渗透系数。低频超声通过在皮肤中产生亲水通道, 可以克服这两方面的问题。因为这些通道由溶液填满, 亲水性药物可以轻易地渗入角质层。而且, 药物在水中的扩散速度比在规则的脂质双分子层中快得多, 使得药物在皮肤中的透过也很快。因此在低频超声的作用下, 亲水性或蛋白质药物也可以较为容易地透过皮肤。

### 4. 高频超声促渗的机理

Bommanan 等<sup>[12]</sup>进行了示踪元素钨的裸鼠实验, 来考察在 16MHz 的高频超声下的透皮情况。他们在电子显微镜下观察皮肤, 发现在超声 5min 后, 示踪元素钨能深入到皮肤的真皮层。他们进一步报道说在角质层的脂质双层细胞间隙能看到片块分布的示踪元素钨。他们为高频超声促渗提供了以下的解释: 在皮肤中的微囊(气泡)由于超声部位的振动压力而震动, 最终破裂。这些气泡的振动增加了

药物的透皮吸收。他们认为在显微镜下片状分布的示踪元素钨反映了角质层中振动的气泡的位置。在稍后的报道中, Menon 等<sup>[35]</sup>对经过超声并用元素钨示踪的裸鼠皮肤进行显微镜观察, 发现裸鼠皮肤的脂质细胞间存在一条长的连续的通道。他们对超声促渗的机理作出了如下的假设: 应用超声就是将皮肤中填满空气的腔洞打开并扩大, 如同通过破的橡胶管泵入空气。这些角质层中的连续通道增加了药物的透过性。

## 安全性

超声促渗的安全性包括超声设备关闭后皮肤能否恢复屏障功能和超声对皮肤活性部位及以下组织的影响。许多研究文献给出了超声对上述两个组织影响的初步评价。

### 1. 超声结束后皮肤屏障功能的恢复

许多文献显示促渗用超声(1~3 MHz, 0~2W/cm<sup>2</sup>)并不会导致体内皮肤渗透功能的不可逆改变。对雌二醇体外透皮的定量实验研究表明, 促渗用超声(1MHz, 2W/cm<sup>2</sup>)不

会导致皮肤渗透功能的显著的不可逆变化<sup>[36]</sup>。对超低频超声(20kHz, 125mW/cm<sup>2</sup>, 100ms/s 脉冲)也进行了类似的研究,通过对水的透过性来考察超低频超声是否对皮肤的屏障功能造成永久性的损伤<sup>[38]</sup>。当皮肤超声 1h 后,经过 2h 的放置,发现皮肤的透水性与普通被动扩散相似。当皮肤超声 5h 后,经过 2h 的放置,皮肤的透水性是普通被动扩散的 6 倍。当皮肤超声后放置 12h 后,透水性下降到普通被动扩散的 2 倍。此外,将裸鼠皮肤放在高频超声(16MHz)下利用透皮水流失 (TEWL) 来考察高频超声对皮肤屏障的不可逆改变。发现有无高频超声对透皮水流失 (TEWL) 没有显著的影响<sup>[35]</sup>。

## 2. 低频超声的生物效应

20 世纪,医学上已经使用了很宽范围内的超声,例如用于按摩的超声 (1~3 MHz),牙科所使用的低频超声 (23~40kHz)<sup>[70,71]</sup>,诊断所用的高频超声 (3~10 MHz)<sup>[66]</sup>。对于这些,我们需要注意超声对生物组织的影响,然而现在还没有对使用超声的安全参数限制给出结论。

如上所述,超声对生物组织的影响主要在三个方面:热效应,空化效应和声冲流。这些效应在什么情况下是关键因素<sup>[60]</sup>呢?

(1) 热效应在以下条件下可能重要:

- 组织的蛋白质含量较高
- 使用高密度的连续的超声波
- 骨骼被包括在加热的范围中
- 血管化作用比较弱

(2) 空化效应在以下条件下可能重要:

- 使用了低频的超声
- 用在含气的液体
- 小的填充气体的空间
- 组织的温度比正常的高

(3) 声冲流在以下条件下可能重要:

- 介质的声波阻抗不同于所处环境
- 在生物媒介中的液体可以自由流动
- 使用连续的超声波

不同超声条件下的组织学研究用于阐述超声对活性皮肤细胞的影响。Levy 等<sup>[30]</sup>进行了体内研究,将裸鼠皮肤放置在超声 (1MHz, 1.5W/cm<sup>2</sup> 连续超声波或 3W/cm<sup>2</sup> 脉冲超声, 3~5min) 下,发现皮肤没有损伤。Machet 等<sup>[72]</sup>报道,在体外的超声条件下 (3.3MHz, 3W/cm<sup>2</sup>, 10 min),人体和裸鼠的表皮层和真皮层都发生了变化。作者认为热效应和空化效应协同作用可以解释细胞的损伤。由于在低频超声的情况下,空化效应发生的可能性很大。所以在近期,低频超声对皮肤组织的影响引起了广泛的关注。Tachibana 等<sup>[52]</sup>将家兔的皮肤放置在 105kHz 超声下 (5000 Pa, 5s 脉冲, 5s 间隔, 持续 90min),据报道未发现皮肤的红肿或损坏。Mitragotri 等<sup>[37]</sup>对放置在 20kHz 的超声 (125mW/cm<sup>2</sup>, 100ms/s 脉冲, 持续 1h) 下的裸鼠皮肤进行组织学研究,发现表皮和其下的组织均无损伤。最近对皮肤的显微研究中,

Yamashita 等<sup>[54]</sup>将体外的人体皮肤和体内的裸鼠皮肤置于 48kHz, 0.5W/cm<sup>2</sup> 超声下持续 5min,发现情况迥异,一个几乎没有角质化细胞的脱落,另一个的角质化细胞全部脱落。从以上的报道中,我们可以推断出超声,特别是低频超声对皮肤活性细胞的影响主要取决于超声参数,比如:频率、强度、超声时间、循环周期。将来的研究将会集中在制定安全应用超声促渗的参数上。

## 结论

超声的应用促进了药物的透皮吸收,即超声促渗的现象。合适的超声参数包括超声能量、频率、强度、脉冲长度、传感器与皮肤的距离这些对超声促渗起着关键的作用。在过去的 50 年中,对超声促渗所做出的尝试可以分为三类:治疗用频率,高频和低频超声。第一类代表了最常用的超声促渗的条件,但最近关注的热点已经转移到高频和低频超声上了。一些研究人员的机理研究实验表明空化效应起着很大的作用。空化效应打破了皮肤的脂质双层结构,使得药物的透皮吸收增加。各种实验表明在适当的条件下应用超声促渗不会引起皮肤和其下组织永久的损伤。当然还需要做更多的工作来得到超声促渗的安全性结论。

## 参考文献

1. Jarrett, A. The Physiology and Pathology of the Skin; Ed.; Academic Press: London, 1978.
2. Walters, K. A. Penetration Enhancers and Their Use in Transdermal Therapeutic Systems. Penetration Enhancers and their Use in Transdermal Therapeutic Systems; Hadgraft, J., Guy, R. H., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989, 197—233.
3. Junginger, H. E.; Bodde, H. E.; de Haan, F. H. N. Penetration. In Visualization of Drug Transport across Human Skin and the Influence of Penetration Enhancers; Hsieh, D. S., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 59—90.
4. Bommanon, D.; Tamada, J.; Leung, L.; Potts, R. Effects of Electroporation on Transdermal Iontophoretic Delivery of Leutinizing Hormone Releasing Hormone. Pharm. Res. 1994, 11, 1809—1814.
5. Prausnitz, M. R.; Bose, V.; Langer, R.; Weaver, J. C. Electroporation of Mammalian Skin: Mechanism to Enhance Transdermal Drug Delivery. Proc. Natl. Acad. Sci. 1993, 90, 10504—10508.
6. Burnette, R. R. Iontophoresis. In Transdermal Drug Delivery: Development Issues and Research Initiatives; Hadgraft, J., Guy, R. H., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989, 247—291.
7. Antich, T. J. Phonophoresis: The Principles of the Ultrasonic Driving Force and Efficacy in Treatment of Common Orthopedic Diagnoses. J. Orth. Sports Phys. Ther.



- 1982, 4, 99—102.
8. Benson, H. A. E.; McElnay, J. C.; Harland, R. Phonophoresis of Lingocaine and Prilocaine from Emla Cream. *Int. J. Pharm.* 1988, 44, 65—69.
9. Benson, H. A. E.; McElnay, J. C. R. H. Use of Ultrasound to Enhance Percutaneous Absorption of Benzydamine. *Phys. Ther.* 1989, 69, 113—118.
10. Benson, H. A. E.; McElnay, J. C. J. H. Influence of Ultrasound on the Percutaneous Absorption of Nicotinate Esters. *Pharm. Res.* 1991, 9, 1279—1283.
11. Bommannan, D.; Okuyama, H.; Stauffer, P.; Guy, R. H. Sonophoresis. I. The Use of High-Frequency Ultrasound to Enhance Transdermal Drug Delivery. *Pharm. Res.* 1992, 9, 559—564.
12. Bommannan, D.; Menon, G. K.; Okuyama, H.; Elias, P. M.; Guy, R. H. Sonophoresis. II. Examination of the Mechanism (s) of Ultrasound-Enhanced Transdermal Drug Delivery. *Pharm. Res.* 1992, 9, 1043—1047.
13. Brondolo, W. *Arch. Orthop.* 1960, 73, 532—540.
14. Ciccone, C. D.; Leggin, B. Q.; Callamaro, J. J. Effects of Ultrasound and Trolamine Salicylate Phonophoresis on Delayed-Onset Muscle Soreness. *Phys. Ther.* 1991, 71, 666—678.
15. Davick, J. P.; Martin, R. K.; Albright, J. P. Distribution and Deposition of Tritiated Cortisol Using Phonophoresis. *Phys. Ther.* 1988, 68, 1672—1675.
16. Fellingner, K.; Schmidt, J. *Klinik und Therapie des Chronischen Gelenkreumatismus*, Maudrich, Vienna, Austria 1954, , 549—554.
17. Fogler, S.; Lund, K. Acoustically Augmented Diffusional Transport. *J. Acous. Soc. Am.* 1973, 53, 59—64.
18. Griffin, J. E.; Touchstone, J. Ultrasonic Movement of Cortisol into Pig Tissue. *Am. J. Phys. Med.* 1965, 44, 20—25.
19. Griffin, J. E. Physiological Effects of Ultrasonic Energy as it is Used Clinically. *J. Am. Phys. Ther. Assoc.* 1966, 46, 18—26.
20. Griffin, J. E.; Echternach, J. L.; Proce, R. E.; Touchstone, J. C. Patients Treated with Ultrasonic Driven Hydrocortisone and with Ultrasound Alone. *Phys. Ther.* 1967, 47, 600—601.
21. Griffin, J. E.; Touchstone, J. C. Low-Intensity Phonophoresis of Cortisol in Swine. *Phys. Ther.* 1968, 48, 1136—1344.
22. Griffin, J. E.; Touchstone, J. C. Effects of Ultrasonic Frequency on Phonophoresis of Cortisol into Swine Tissues. *Am. J. Phys. Med.* 1972, 51, 62—78.
23. Julian, T. N.; Zentner, G. Ultrasonically Mediated Solute Permeation through Polymer Barriers. *J. Pharm. Pharmacol.* 1986, 38, 871—877.
24. Julian, T. N.; Zentener, G. M. Mechanism for Ultrasonically Enhanced Transmembrane Solute Permeation. *J. Control. Rel.* 1990, 12, 77—85.
25. Kleinkort, J. A.; Wood, F. Phonophoresis with 1 Percent Versus 10 Percent Hydrocortisone. *Phys. Ther.* 1975, 55, 1320—1324.
26. Kost, J.; Levy, D.; Langer, R. Ultrasound as a Transdermal Enhancer. *Percutaneous Absorption Mechanisms-Methodology-Drug Delivery*; Bronaugh, R., Maibach, H. I. Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 595—601.
27. Kost, J.; Langer, R. Ultrasound-Mediated Transdermal Drug Delivery. *Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence, and Penetration*; Shah, V. P., Maibach, H. I., Eds.; Plenum; New York, 1993; 91—103.
28. Kost, J. Ultrasound for Controlled Delivery of Therapeutics. *Clin. Mater.* 1993, 13, 155—161.
29. Lenart, I.; Auslander, D. The Effects of Ultrasound on Diffusion through Membranes. *Ultrasonics* September 1980, 216—217.
30. Levy, D.; Kost, J.; Meshulam, Y.; Langer, R. Effect of Ultrasound on Transdermal Drug Delivery to Rats and Guinea Pigs. *J. Clin. Invest.* 1989, 83, 2974—2078.
31. Machluf, M.; Kost, J. Ultrasonically Enhanced Transdermal Drug Delivery. *Experimental Approaches to Elucidate the Mechanism*. *J. Biomat. Sci.* 1993, 5, 147—156.
32. McElnay, J. C.; Matthews, M. P.; Harland, R.; McCafferty, D. F. The Effect of Ultrasound on the Percutaneous Absorption of Lingocaine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1985, 20, 421—424.
33. McElnay, J. C.; Kennedy, T. A. R. H. The Influence of Ultrasound on the Percutaneous Absorption of Fluocinolone Acetonide. *Int. J. Pharm.* 1987, 40, 105—110.
34. McElnay, J. C.; Benson, H. A. E.; Harland, R.; Hadgraft, J. Phonophoresis of Methyl Nicotinate: A Preliminary Study to Elucidate the Mechanism. *Pharm. Res.* 1993, 4, 1726—1731.
35. Menon, G.; Bommanan, D.; Elias, P. High-Frequency Sonophoresis: Permeation Pathways and Structural Basis for Enhanced Permeability. *Skin Pharmacol.* 1994, 7, 130—139.
36. Mitragotri, S.; Edwards, D.; Blankschtein, D.; Langer, R. A Mechanistic Study of Ultrasonically Enhanced Transdermal Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 697—706.
37. Mitragotri, S.; Blankschtein, D.; Langer, R. Ultrasound-Mediated Transdermal Protein Delivery. *Science* 1995, 269, 850—853.
38. Mitragotri, S.; Blankschtein, D.; Langer, R. Transdermal Drug Delivery Using Low-Frequency Sonophoresis. *Pharm. Res.* 1996, 13, 411—420.
39. Mitragotri, S.; Blankschtein, D.; Langer, R. An Explanation for the Variation of the Sonophoretic Transdermal Transport Enhancement from Drug to Drug. *J. Pharm.*

- Sci. 1997, 86, 1190—1192.
40. Mitragotri, S.; Farrell, J.; Tang, H.; Terahara, T.; Kost, J.; Langer, R. Determination of Thresholds Energy Dose for Ultrasound-Induced Transdermal Drug Transport. *J. Control. Rel.* 2000, 63, 41—52.
41. Miyzaki, S.; Mizuoka, O.; Takada, M. External Control of Drug Release and Penetration: Enhancement of the Transdermal Absorption of Indomethacin by Ultrasound Irradiation. *J. Pharm. Pharmacol.* 1990, 43, 115—116.
42. Mortimer, A. J.; Trollope, B. J.; Roy, O. Z. Ultrasound-Enhanced Diffusion through Isolated Frog Skin. *Ultrasonics* 1988, 26, 348—351.
43. Newman, J. T.; Nellermo, M. D.; Crnett, J. L. Hydrocortisone Phonophoresis; A Literature Review. *J. Am. Pod. Med. Assoc.* 1992, 82, 432—435.
44. Novak, E. J. Experimental Transmission of Lidocaine through Intact Skin by Ultrasound. *Arch. Phys. Med. Rehab.* May 1964, , 231—232.
45. Oziomek, R. S.; Perrin, D. H.; Herold, D. A.; Denegar, C. R. Effect of Phonophoresis on Serum Salicylate Levels. *Med. Sci. in Sports and Exer.* 1990, 23, 397—401.
46. Policoff, L. D. Effective Use of Physical Modalities. *Orthopedic Clinics of North America* 1982, 13, 579—586.
47. Pottenger, J. F.; Karalfa, L. B. Utilization of Hydrocortisone Phonophoresis in United States Army Physical Therapy Clinics. *Milit. Med.* 1989, 154, 355—358.
48. Pratzel, H.; Ditrich, P.; Kukovetz, W. Spontaneous and Forced Cutaneous Absorption of Indomethacin in Pigs and Humans. *J. Rheumat.* 1986, 13, 1122—1125.
49. Quillen, W. S. Phonophoresis; A Review of the Literature and Technique. *Athlet. Train.* 1980, 15, 109—110.
50. Skauen, D. M.; Zentner, G. M. Phonophoresis. *Int. J. Pharm.* 1984, 20, 235—245.
51. Tachibana, K.; Tachibana, S. Transdermal Delivery of Insulin by Ultrasonic Vibration. *J. Pharm. Pharmacol.* 1991, 43, 270—271.
52. Tachibana, K. Transdermal Delivery of Insulin to Alloxan-Diabetic Rabbits by Ultrasound Exposure. *Pharm. Res.* 1992, 9, 952—954.
53. Tachibana, K.; Tachibana, S. Use of Ultrasound to Enhance the Local Anesthetic Effect of Topically Applied Aqueous Lidocaine. *Anesthesiology* 1993, 78, 1091—1096.
54. Yamashita, N.; Tachibana, K.; Ogawa, K. Scanning Electron Microscopy Evaluation of the Skin Surface after Ultrasound Exposure. *Anat. Rec.* 1997, 247, 455—461.
55. Williams, A. R. Phonophoresis; An In Vivo Evaluation Using Three Topical Anaesthetic Preparations. *Ultrasonics* 1990, 28, 137—141.
56. Wing, M. Phonophoresis with Hydrocortisone in the Treatment of Temporomandibular Joint Dysfunction. *Phys. Ther.* 1981, 62, 32—33.
57. Kinsler, L. W.; Frey, A. R.; Coppens, A. B.; Sanders, J. V. *Fundamentals of Acoustics*; John Wiley & Sons: New York, 1982.
58. Hueter, T. F.; Bolt, R. H. *Sonics: Techniques for the Use of Sound and Ultrasound in Engineering and Science*; John Wiley & Sons: New York, 1962.
59. Gaertner, W. Frequency Dependence of Acoustic Cavitation. *J. Acoust. Soc. Am.* 1954, 26, 977—80.
60. Suslick, K. S. *Ultrasound: Its Chemical, Physical and Biological Effects*; VCH Publishers: New York, 1989.
61. Crum, L. A.; Folwkes, J. B. Acoustic Cavitation Generated by Microsecond Pulses of Ultrasound. *Nature* 1986, 52, 319.
62. Ciaravino, V.; Flynn, H. G.; Miller, M. W. Pulsed Enhancement of Acoustic Cavitation: A Postulated Model. *Ultrasound Med. Biol.* 1981, 7, 159—166.
63. Tyle, P.; Agrawala, P. Drug Delivery by Phonophoresis. *Pharm. Res.* 1989, 6, 355—360.
64. Hanch, C.; Leo, A. Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biological Sciences; Wiley: New York, 1979.
65. Flynn, G. L. Physiochemical Determinants of Skin Absorption. *Physiochemical Determinants of Skin Absorption*; Gerrity, T. R., Henry, C. J., Eds.; Elsevier: New York, 1990; 93—127.
66. Wells, P. N. T. *Biomedical Applications of Ultrasound*; Plenum Press: New York, 1977.
67. Nyborg, W. L. *Acoustic Streaming. Acoustic Streaming*; Mason, W. P., Ed.; Academic Press: New York, 1965; II B, 265—331.
68. Simonin, J. P. On the Mechanisms of In Vitro and In Vivo Phonophoresis. *J. Control. Rel.* 1995, 33, 125—141.
69. Edwards, D.; Langer, R. A Linear Theory of Transdermal Transport Phenomena. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83, 1315—1334.
70. Walmsley, A. D. Applications of Ultrasound in Dentistry. *Ultrasound Med. Biol.* 1988, 14, 7—14.
71. Walmsley, A. D. Potential Hazards of the Dental Ultrasonic Descaler. *Ultrasound Med. Biol.* 1988, 14, 15—20.
72. Machet, L.; Pinton, J.; Patat, F.; Arbeille, B.; Pourcelot, L.; Vaillant, L. In Vitro Phonophoresis of Digoxin across Hairless Mice and Human Skin; Thermal Effect of Ultrasound. *Int. J. Pharm.* 1996, 133, 39—45.

# 晶癖的改变和剂型的性能

A. K. Tiwary

Punjabi University, Patiala, India

## 引言

结晶的粒子有一定的外部和内部结构特性。晶癖描述的是晶体外部的形态，而多晶型态指的是晶格内一定的分子排列。结晶总是作为纯化固体的最后一步。采用不同的溶剂和处理条件除了能改变晶型也能改变重结晶粒子的晶癖，而这一阶段晶癖的微小变化能引起原料特性的显著变化。剂型性能的各种参数，如粒子取向、流动性、包裹性、

压缩性、悬浮稳定性和溶出度，甚至在晶型没有显著改变时也能发生变化。这些都是不同晶癖物理作用的结果。此外，在加工或储存中，无论晶型改变与否，晶癖的变化都会引起剂型中物理稳定性的严重变化。因此，为了尽可能减少原料性质的变化，为了保证处方预期结果的重现性，也为了正确判断剂型不稳定及性能差的原因，有必要认清晶体表面外观和药物粉末晶癖的变化的重要性。图 1 描述了在药物加工过程中很可能出现晶癖变化的临界阶段的概况。

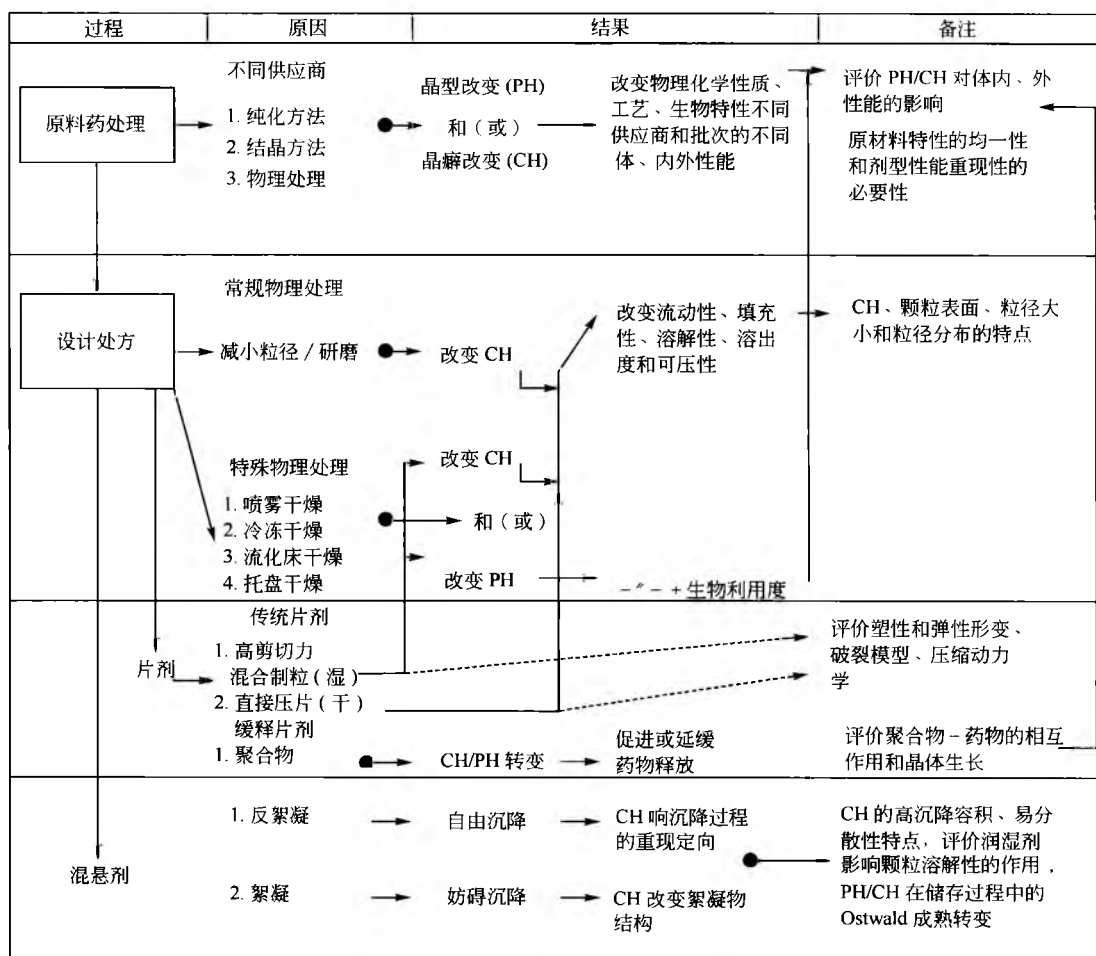


图 1 因果关系流程图：描绘晶癖在剂型设计和性能中的重要性

## J

## 晶癖变化

内部结构或多晶型代表晶体内的分子排列,并以一定的熔化热值表示。外部结构或晶癖是晶体的外部描述,并用长、宽、厚度和表面形态(粗糙、光滑和孔隙率)来描述。晶体生长可能受同时生长的邻近晶体或接触到的容器壁的阻碍。因此,平面的发展可能被抑制,而导致片状(平行面的适度发展)、板形(平行面的过度发展)、棱柱形、针形(宽度受抑制)或刀刃形(扁平的针形)等晶癖的形成<sup>[1,2]</sup>。

因此,一个复合物的单一内部结构可以有几个不同的晶癖。延缓结晶时,就可能产生不规则形状的晶体,因为只能占领已结晶粒子间留下的空间因而结晶受到抑制。这些不规则形状的晶体被描述为他(整)形的,而那些被平

面束缚的晶体被称为自(整)形的。然而,他(整)形的晶体晶格内具有规则排序的结构块。

固体的结晶可能受配方设计及结晶过程中过程变量的影响。然而,描述过程变量对晶癖的作用是很难的,因为变量的变化经常导致物质的沉淀和溶解速率在晶体生长阶段的变化,而且各个过程是相互作用而不是彼此独立的。例如,温度的变化同时改变结晶溶剂的黏度和溶质的饱和程度。因此,温度升高同时影响晶核中溶质的沉淀和溶解速率。同样,搅拌的速度影响晶核形成,因为它既影响溶液的温度,也影响晶体的生长,因为溶质在溶剂中均衡分布,变量改变的净结果通常取决于占优势的因素,如初始过饱和浓度、潜溶剂的性质、溶剂结晶、冷却速度等。表1概括了一些改变晶癖的重要因素和晶癖改变对剂型性能的预期影响。

表1 结晶过程变量对晶癖和剂型性能的影响

结晶过程变量	对晶癖的可能影响	对晶体/剂型性能的可能影响 <sup>1)</sup>
过饱和		
1. 高饱和或溶质-溶剂重要的相互作用	晶核形成的速度比晶体生长速度快	产生细小微粒
2. 低饱和或溶质-溶剂不重要的相互作用	某一方向生长较多产生针形晶体产生板状晶体	针形晶体,流动性差,引起加料斗桥连板状晶体,溶出度大,但不适合片剂
冷却速度和溶液搅拌程度		
1. 快速冷却	发生快速结晶生长及不对称(薄片晶体)的生成	板状晶体,不适合片剂
2. 慢速冷却	晶体生长的速度减小,对称晶体生成	用对称的、压实的晶体生成更易预测和重现的性能
3. 搅拌速度快	甚至晶核中结晶溶质的分布能生成有粒径分布小的拉长晶体	可以得到想要的微粒粒径范围;这样的晶体流动性好,在混悬液中沉降少晶体微粒粒径大,不适于处方设计
4. 搅拌速度慢或无搅拌溶液	结晶分子沉积于被选择的晶体表面,生成大板状晶体	
结晶溶剂的性质		
1. 与结晶溶质亲和力大	晶核形成延迟,并且细小、对称晶体形成 溶质和溶剂特定官能团间的相互作用,可能阻止被选择晶体表面生长 为了得到形状、界限分明的晶体需要很高的结晶溶质/结晶溶剂比例 立即形成晶核及晶体生长快	期望的晶体大小,较好溶出度和流动性 可能生成拉长的晶体,由于其良好的流动性及沉降行为而适于处方设计
2. 与结晶溶质亲和力小	生成相对较大的晶体 为了得到形状、界限分明的晶体,需要低的结晶溶质/结晶溶液的比例	
结晶溶剂的温度		
1. 低温	由于饱和浓度自发降低快速晶核形成,产生不规则形状晶体	不规则(树枝状)晶体不适于制作片剂
2. 高温	晶核形成被延迟且形状、界限分明的晶体生成	可以得到想要的适合剂型的晶体形状和大小
杂质的存在		
1. 能吸附的离子,溶质分子	阻止某些晶面的过度生长	想要的晶态可以通过重结晶纯化得到
2. 聚合物和药物之间的结构相容性	聚合物和结晶溶质的官能团的相互作用,阻碍某些晶面的生长	阻止晶癖转变

1) 关于结晶过程变量对晶癖和剂型性能的影响,还不能得出结论。因为过程变量的影响是相互作用且不能独立于其他变量,这里列出的影响只能作为指导<sup>[72]</sup>。

使用不同结晶条件而产生的晶型改变和这些晶型对剂型稳定性和生物属性的影响已经受到许多研究人员的关注。然而,似乎没有给予晶癖足够的重视,可能是因为结晶过程的复杂性及能同时改变化合物晶癖和晶型。然而,因为结晶特性表面上看来微不足道而对剂型性能有很大影响,所以有必要研究影响晶癖的重要因素。

## 影响晶癖的因素

### 1. 过饱和度

母液的过饱和度或与生长晶体相反方向的溶质浓度差都会影响晶癖。过饱和对晶癖改变的影响表达为等式:  $y/x = k\Delta G^n$ , 其中  $y/x$  是晶体长与宽的比值,  $k$  是依赖于扩散的比例系数,  $\Delta G$  是过饱和度(晶核形成时每 1000 mol 溶剂中的摩尔数),  $n$  是依赖于结晶种类和物质化学成分的量<sup>[3]</sup>。

据报道,  $\text{BaSO}_4$  沉淀最初受成核反应控制, 最后受生长反应控制, 生长的动力学可由下式表示:

$$\frac{da}{dt} = -k(c_0 - c)^{2/3} a^q$$

式中:  $a$  为  $\text{Ba}^{2+}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的平均离子活度;  $t$  为时间;  $c_0$  和  $c$  分别为  $t_0$  和  $t$  时  $\text{BaSO}_4$  达到的摩尔浓度;  $k$  合并了动力学常数和形状系数;  $q$  为平均离子活度的变化速率与粒子表面的比值<sup>[4]</sup>。

然而, Nielsen<sup>[5~7]</sup>报道了  $\text{BaSO}_4$  的生长受化学反应的控制, 而在这一反应中晶体形成是第四能量步骤。发现当浓度大于 0.4 mmol/L 时, 沉淀受扩散控制, 表达为

$$K_0 t = \int_0^a a^{-13} (1 - a)^{-1} da$$

当浓度小于 0.4 mmol/L 时, 动力学用下式表示:

$$K_R t = \int_0^a a^{-23} (1 - a)^{-4} da$$

式中:  $a$  为沉淀的程度。因此, 初始浓度小于 0.5 mmol/L 时生成小棱晶, 浓度在 0.5~1.5 mmol/L 生成变形的棱晶(角多生长于面的中心)。然而, 当浓度大于 1.5 mmol/L 时, 角多生长于晶体的其他部分, 呈现星形外观。研究已表明, 当晶体生长受扩散控制时, 星形晶体就会产生, 因为结晶溶质的浓度在各角最大。另外, 当沉淀溶质的浓度在整个表面相同时, 可以观察到矩形晶体。当溶质的消耗(溶解)速度小于扩散速度时, 就可能发生这种情况。

在静止条件下, 从低饱和度乙醇中得到的无水胆固醇晶体像盘子; 那些从振荡溶液中得到的是被拉长的晶体; 那些从搅拌溶液中沉淀出的是针形的晶体。当使用乙腈或甲醇作为结晶溶液时能观察到同样的变化趋势<sup>[8]</sup>。在高饱和度小极性溶剂中针形晶体的形成是由于有效的溶剂-溶质相互作用。有效反应可能会导致一些面的优先结块, 使晶体朝某一方向生长, 从而导致针形晶癖的产生。相似地, 当溶剂-溶质内部作用小时形成板形晶体。

有报道说, 溶剂-溶质的相互作用影响硬脂酸的晶

癖<sup>[9]</sup>。少量表面活性剂的加入不论溶质的性质和结晶条件怎样都使硬脂酸晶体只能以一种晶癖的形式生长。这是毫无意义的。这是因为加入的表面活性剂分子改变了溶剂-溶质的相互作用。因此, 在缺少有效的溶剂-溶质相互作用(用比较惰性的溶剂)时, 过饱和度占优势, 而过饱和度也会影响结晶溶质粒子的大小。高饱和度时, 晶核形成比晶体生长快, 这导致细小颗粒沉淀。然而, 在热重结晶时产生大晶体, 这是因为晶体生长比晶核形成快<sup>[10]</sup>。

靠近生长晶体优势面的扩散边界层, 在非搅拌系统中能改变晶体的生长。150 mm 厚的不流动边界层能限制生长晶体表面的结晶分子的扩散和沉淀。吸附的杂质和多聚物会进一步阻碍晶体的生长<sup>[11]</sup>。因此, 母液的过饱和度通过影响不同表面分子沉淀的均匀性而改变结晶粒子的形状。值得注意的是, 过饱和状态不仅依赖于所选择的用来溶解药物的溶剂, 而且还依赖于所选择的结晶溶剂的性质。这两个溶剂的混合影响对于改变晶癖和结晶粒子的大小是很关键的。

### 2. 冷却的速度和溶液搅拌的程度

冷却的速度通过影响母液的不饱和程度来调整晶癖。冷却药物的过饱和溶液, 或者把它注入保持低温度的结晶溶剂就能立即降低药物的溶解度, 从而导致药物分子在晶核上的快速沉淀。

乙醇或甲醇的苯溶液的快速冷却会产生薄板, 然而慢慢冷却产生了致密的晶体。这是由于在慢速冷却时药物分子在晶体表面沉淀慢<sup>[12]</sup>。研究表明, 快速冷却通常产生针形晶体, 因为拉长的形状散热最有效<sup>[13]</sup>。在冷却速度下降时, 溶液长时间保持未饱和。这将导致延迟晶核形成, 使结晶分子沉淀缓慢, 最终出现匀称晶体。乙酰唑胺溶液在沸水中的慢速冷却产生柱状晶体, 而较快冷却产生板状晶体。同样, 扑热息痛的水饱和溶液从 65℃ 冷却到 25℃ 产生多面体晶体。热乙醇浓溶液加到 3℃ 水中得到板状晶体<sup>[14]</sup>。因此, 结晶过程中冷却速度的调节是可用作改变晶癖的一种有效的方法。由此推出, 在加工或储存过程中, 当剂型重复地受温度变化影响时晶癖变化是不可避免的, 而在这一过程中药物粒子会溶解, 然后重结晶产生新晶体。

理论上, 溶液搅拌的程度会影响晶核固液界面的饱和度和, 也会带来系统温度的下降。这很可能是静态溶液中大块板状晶体和搅拌溶液中被拉长晶体形成的原因<sup>[8]</sup>。似乎对溶液搅拌速度的影响还没有深入地进行研究, 这需要进行进一步的评价。

### 3. 潜溶剂和结晶溶剂的性质

结晶溶剂是一种介质, 将潜溶剂中制备的药物饱和溶液加入到该介质中通过沉淀影响结晶。它们可以是缓冲液(pH 改变方法)、水或有机溶剂。作为结晶过程的必要条件, 结晶剂必须同制备药物饱和溶液的液体相混溶。可混溶的要求就意味着溶质-溶剂相互作用的强度可以通过选择不同的潜溶剂和(或)结晶溶剂来进行调整。

有报道说,胆固醇在乙醇或甲醇中析出针形结晶,在乙腈中析出板状结晶<sup>[8]</sup>。甲氧苄啶和磺胺甲噁唑<sup>[17]</sup>已经在不同结晶溶剂中分别结晶成不同晶癖(图2)。这些研究也揭示了属于同种晶型的药物用相同结晶溶剂只改变结晶的过程变量,如潜溶剂/结晶溶剂的比例、潜溶剂和结晶溶剂的温度及冷却速度,就能获得不同的晶癖。对药物有高亲和力的潜溶剂要求较高的潜溶剂对结晶溶剂的比例以产生较好的形态。提高潜溶剂或结晶溶剂的温度导致的最初饱和度的下降延迟了晶核形成和结晶的开始,因此产生了等轴的小晶体。已有研究表明,这是晶核中溶质分子慢速均衡沉淀的结果。然而,冷却速度的不同丝毫不会影响晶癖,因为药物会自发沉淀。因此,这些研究意味着在制备特定属性的晶体时,过程变量对于调整晶癖与结晶溶剂同样重要,应给予其应有的重视。

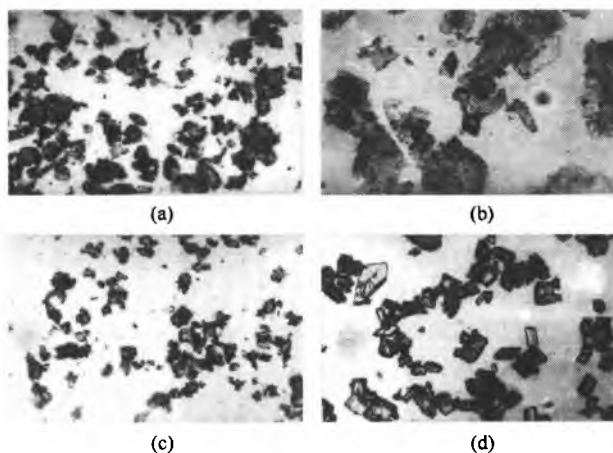


图2 显微照片(放大200倍)显示了磺胺甲噁唑的不同晶癖[同一晶型的(a)和(b)]和甲氧苄啶[同一晶型的(c)和(d)]的不同晶癖。(a)、(c)商业药物样品;(b)将磺胺甲噁唑在室温溶于PEG200,并以1:20的比例加入水中(70℃)后冷却到4℃而得到;(d)将甲氧苄啶在室温溶于二甲替甲酰胺,并以1:20的比例加入水中(70℃)后冷却到室温而得到

在不同晶体-溶液界面结晶溶剂的相互作用,可能会引起生长晶体面/边缘圆整性的改变、晶体生长动力学的变化和某晶体表面生长的增强或抑制,因此改变晶癖<sup>[18]</sup>。另外,溶剂的极性及其在所选晶体面的选择吸附性都能明显改变结晶固体粒子的属性。已有报道,咪喃妥因在甲酸/水(2:1)混合液中结晶型成一水合物,因为其极性区和水的相互作用比其与甲酸的相互作用大。已有研究表明,这些水分子在晶体生长中保持在活跃位置,同时甲酸的去溶剂化更容易发生,因而产生了改变的晶癖<sup>[19]</sup>。

双氯酚酸钠溶解在热水中并放置一夜以四水合物的形式结晶,而它的钾盐则以二水合物的形式结晶。图3(a)所示商品双氯酚酸钠为坚固不透明晶体。当其从水中沉淀时可得到薄的小叶形晶体[图3(b)]。另外,发现钾盐为规则的刀片形态[图3(c)],而在100℃脱水后刀片形态消失[图3(d)]。双氯酚酸钠盐和钾盐在甲醇中重结晶分

别得到分层[图3(e)]和薄的伸长的杆形晶体[图3(f)]<sup>[20]</sup>。同样,磺胺嘧啶在氨溶液中重结晶得到长的、棱形的、边缘光滑的有明显不同物理技术性质的晶体<sup>[21]</sup>。

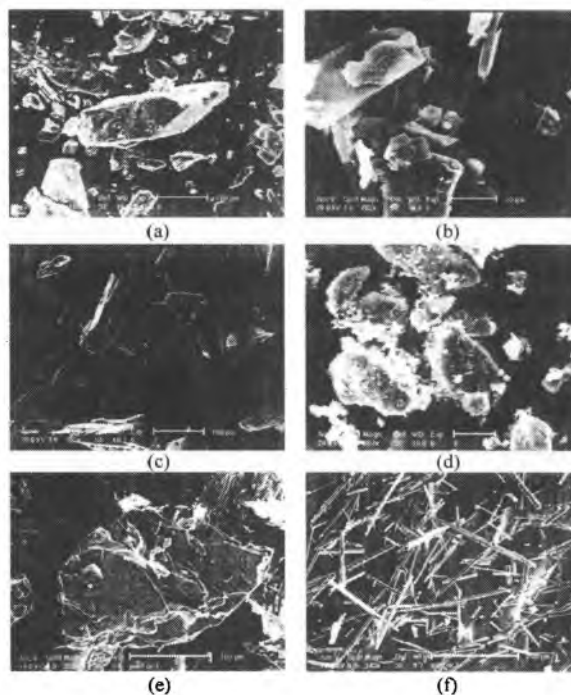


图3 无水双氯酚酸钠商品的扫描电子显微照片。(a)以四水合物形式沉淀;(b)双氯酚酸钾(二水合物);(c)双氯酚酸钾二水合物(100℃脱水);(d)甲醇结晶的双氯酚酸钠;(e)甲醇结晶的双氯酚酸钠;(f)甲醇结晶的双氯酚酸钾<sup>[20]</sup>(经 John Wiley & Sons 公司许可拷贝)

已发现溶剂的性质对布洛芬的晶癖有非常重要的影响。从乙醇和丙酮(溶剂有很高的表面张力、电介质常数和较小的比重)中沉淀出的布洛芬晶体很薄、扁平,呈近圆形,而那些从丙二醇和2-丙醇中得到的是杆状晶体<sup>[22]</sup>。Garekani等<sup>[23]</sup>已报道了相似的观察结果,其资料中结晶的布洛芬粒子的所有晶癖属于同一种晶型。从极性溶液中沉淀析出的布洛芬圆形或多面体晶癖可归因于这些溶剂间的次要相互作用。当加入HCl而使pH下降时,NaOH溶液(pH10)内的显著相互作用导致针状晶体的析出。然而,当布洛芬溶解在乙腈中时却得到球形团块状晶体,这是由于乙腈与水有限的混溶性而使结晶发生在乳液小滴上(图4)<sup>[24]</sup>。

要注意到不同于沉淀方法,当饱和溶液在120min内冷却至5℃时,极性溶液(如丙酮)和非极性溶液(如乙醚)与正乙烷都能产生布洛芬针形晶体。二氯甲烷生成立方晶体,而乙腈用这种方法生成球形块状晶体。乙醇挥发生成板状晶体,乙醚挥发生成针形晶体<sup>[24]</sup>。溶剂使布洛芬在不改变其晶型的状态下结晶成明显不同的晶癖的能力,被认为是运用不同结晶方法引起溶剂-溶质间相互作用改变的结果。布洛芬较大幅度地溶解在半极性和非极性溶剂中,这

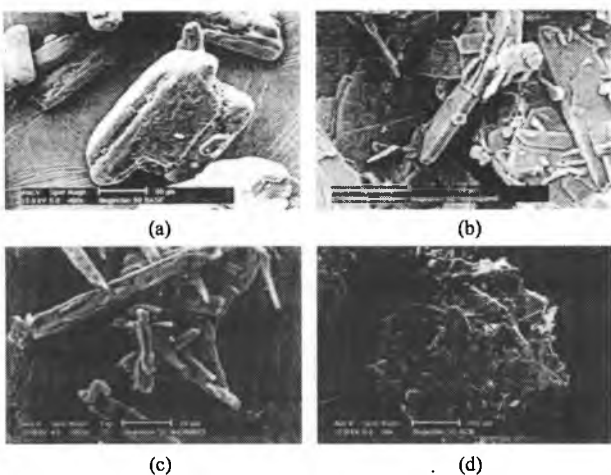


图4 布洛芬商品样品的扫描电子显微照片 (a); 改变溶剂方法制备的晶体, 分别使用异丙醇 (b); 氢氧化钠 (c) 和乙腈 (d) (经 Marcel Dekker 公司允许拷贝)<sup>[24]</sup>

就意味着有很强的溶质-溶剂间作用。当在水中沉淀形成晶体时, 这种强烈的相互作用很快减弱, 也不再抑制晶体的生长。这就会导致溶质分子在晶核所有面上的沉淀, 因而产生平板、多面体或圆形晶体。然而, 当通过降低温度或蒸发而结晶时, 最初的强烈的相互作用一直保持到过程的结束。因此, 晶核生长在某些面被阻止达到一定程度, 使半极性和非极性溶剂中均生成针形晶体。

#### 4. 杂质的存在

溶质或溶液中存在的离子、聚合物分子或其他物质对晶体生长来说都是杂质。已有报道说, 在甘露醇的晶种上甲基化乙醇的表面吸附会产生表面多孔的晶体, 这种晶体对振动分离更有抵抗性<sup>[25]</sup>。在分子水平上, 杂质能被吸附进晶格里, 从而干扰了晶体规则和重复排列的结构。这些缺陷来源于对于最初晶体结构的局部分子的无序区, 由于更大的分子移动性和更多活跃的化学基团的暴露, 这些缺陷处于一种活化状态。因此, 晶体中的这些缺陷致使反应活性、溶解性和溶出度增强。关于晶格缺陷导致晶型变化的详细讨论不在本主题的范围。但是由于它们对影响稳定性、溶出度、溶解性<sup>[26,27]</sup>及从而对其生物性能方面的重要性, 所以为了清楚解释晶癖的作用, 有必要保证没有晶格缺陷导致的晶型转变的影响。

理解增加杂质产生的晶格缺陷改变晶癖的原理是很合适的。Whetstone<sup>[28-30]</sup>提出无机盐的晶癖调节取决于阴、阳离子置换和染料中置换的特性。已发现在低饱和程度下, 杂质浓度的增加(阳离子或阴离子表面活性剂)导致晶体某些表面生长的停止, 然而在高饱和时, 这些表面活性剂对己二酸晶癖产生的影响很小, 而且阴离子和阳离子表面活性剂作为杂质分别能将晶癖变成针形和鳞片状<sup>[31,32]</sup>。当缬草酸或十一烷酸作为杂质加入时, 己二酸结晶成带圆形边缘的雪茄形晶石。杂质浓度的进一步增加会引起小球合

并成对。去过饱和的己二酸最大生长速度斜率与己酸(杂质)浓度成反比的线性图表明, 除了近表面外己酸在不同面的选择性吸附对己二酸的晶癖改变是有作用的<sup>[33]</sup>。早期己二酸晶体的哑铃形外观表明源于由于晶胞结构中  $a$  轴和  $c$  轴的相似性而形成的结晶学双晶<sup>[34]</sup>。已报道这些晶体具有改变的密度、结晶能和溶出速率<sup>[35]</sup>。最近, 已发现癸酸能进入己二酸晶体  $\{102\}$  表面, 导致  $\{010\}$  区域内的面的缺失。这些晶格变形会导致晶体出现不重合区域, 但是从晶体学角度来看, 这些区域不会成对出现<sup>[36]</sup>。图 5 简述了产生己二酸最终的哑铃形或 8 字形晶型的步骤。

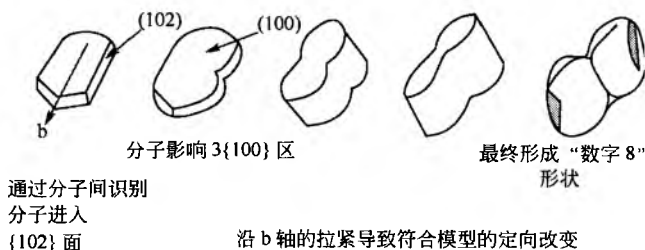


图5 己二酸哑铃形晶体生长过程的示意图<sup>[36]</sup>  
(经 John Wiley & Sons 公司许可拷贝)

除了染料和表面活性剂, 高分子聚合物也会影响生长晶体的晶癖。已有报道说, 磺胺噻唑在聚乙烯吡咯烷酮(PVP)存在下会长成指状突出物。曾有研究提出, PVP 在生长晶体上方形成一个“网”。“网”中的有效孔径和生长抑制取决于 PVP 和磺胺噻唑到达晶体表面的相对转运速度<sup>[37]</sup>。已知卡马西平(无水物)在水中会转变成二水合物<sup>[38]</sup>, 并且这些晶体的生长是按 whisker 原理发生的。已发现羟丙甲纤维素(HPMC)和卵白蛋白(EA)能以浓度依赖方式来延缓卡马西平无水物转变为二水合物, 而且还发现 HPMC 能阻止  $\alpha$ -形式的结晶。低浓度 HPMC 的阻碍作用不能用简单的吸附作用解释, 因为聚合链是缠绕的, 不能自由活动以有效地包裹所有生长位置。因此, 提出 HPMC 作为异相成核的模板, 而卡马西平二聚体通过氢键连接到模板上。更确切地说, 晶格中原子间距离和沿着聚合链的原子内距离之间匹配的结构可认为对抑制转变有一定作用<sup>[39]</sup>。另外, 已发现 EA 对  $\alpha$ -形式结晶的抑制作用不明显, 因为它与卡马西平分子形成 H 键的能力很弱。EA (卵白蛋白)能减少卡马西平转变为二水合物的程度, 还通过增加二水合物晶体的聚集来减缓须晶的生长。加入 EA 后接触角的增加和十二烷基硫酸盐对 EA 聚集效应的可逆作用, 表明 EA 通过增加二水合物-液体间的界面张力而阻止晶体生长。除此之外, EA 还可作为晶核的微取代物, 以增强须晶面的二维成核<sup>[40]</sup>。

令人感兴趣的是, 注意到 PVP 每个单体只有一个 H 键 C=O 基团, 即使是在高于 HPMC 所需最低浓度 500 倍的摩尔浓度, 也不能彻底阻止甲萘酰基草转变成二水合物<sup>[40]</sup>。相反, 已发现 PVP 能有效改变扑热息痛的晶癖, 高相对分子质量衍生物(PVP 为 10 000 或 50 000)有更大的影响。高相对分子质量 PVP 吸附到扑热息痛生长的晶体, 其结果



是形成由大量杆状微晶组成的类球形结构而晶型没有发生变化<sup>[41]</sup>。

关于聚合物杂质对晶癖改变影响的差异似乎是由于结晶过程中晶核形成和生长的复杂性质造成的。聚合物只有在与结晶分子的大小或结构相似的情况下才能进入晶体,而实际情况往往不是这样。已发现 HPMC 能同时作为醋酸氢化可的松的结晶抑制剂和晶癖调整剂,而 PVP 和 PEG 400 主要作为结晶抑制剂。有人曾提出这是 HPMC (通过羟基) 在生长的晶体表面的强烈相互作用的结果。在不搅拌体系中,因为形成生长晶体表面邻近的扩散边界层,这种影响变得很明显。该层中聚合物分子的积聚阻碍药物分子扩散通过,从而导致晶体生长的抑制。另外,当聚合物基团选择吸附到特定晶体面从而阻止这些面的生长而其他面生长正常时,晶癖就得到调整。所以,不能相互作用仅被吸附的聚合物没有调整晶癖的能力<sup>[11]</sup>。

多晶型分子,如甲基丙烯酸共聚物通过形成胶束的能力可以调整晶癖,这是因为分子中存在季铵基团。增加布洛芬溶解度的水不溶性丙烯酸树脂(RS 和 RL)比水溶性丙烯酸树脂(L 和 S)得到更少的晶体产量。然而,所有这些聚合物都能产生表面粗糙具有更多孔隙的球状附聚物晶体。在存在丙烯酸树脂的条件下产生的晶体有更大的孔直径,并且有更多的颗粒内孔隙,这意味着聚合物并没有在附聚物微晶间的空隙中沉积<sup>[42]</sup>。

特制的杂质可以用于特殊的药物分子。已发现扑热息痛结晶过程中应用 PAA 能生成圆柱形晶体。PAA 进入临界晶核延迟成核作用的开始,并导致晶体显现出嵌合体,这暗示着晶体中重要链式/缺陷内容物的发生<sup>[43]</sup>。

因此,不考虑操作的机理,如果已知杂质可以将生长结晶调节成剂型设计和性质所需要的形态,就可以通过在结晶过程中添加杂质来设计晶癖。

## 晶癖对剂型性能的重要性

### 1. 片剂的处方设计

众所周知,晶癖表现出均衡的晶态特性,如方晶系在直接压片过程中没有出现任何困难。Jaffe 和 Foss<sup>[44]</sup>指出,在立方晶和六方晶系中大多数为二元化合物,它们比三元化合物具有更高的匀称性,而且在斜方晶系、单斜晶系和三斜晶系中发现了更复杂的化合物。对称性低的结构,如钙、铅、镍、钾、银和钠的碳酸盐已报道不能直接被压制成片。与多角的微粒相比喷雾干燥的规则球形微粒乳糖采用直接压片能形成更坚固的片剂<sup>[45]</sup>。同样,已有报道说,甲苯磺丁脲板形(B型)被非板形(A型)晶体替代后能消除片剂的顶裂<sup>[46]</sup>。这些结果说明,晶体的匀称性对直接压片来说是必要前提。

成功的压片要求加料斗的匀流、适当的填充、重整排列、减少孔隙和在冲模穴中微粒的变形。已发现阿司匹林薄针状晶体能自动与冲头面对齐,形成显现低侧压传递特

点的分层结构<sup>[47]</sup>。能增加放射性传递压力鳞片状材料<sup>[48]</sup>强化了这一论点。除了晶体形状的力学影响,(低匀称性晶体的)凝聚力和硬度的各向异性引起的其他主导因素也使压片变得容易。随着晶癖的变化,优势面各向异性变化,并且在压制过程中容易定向晶体,从而在填充和压制动力学方面呈现明显的不同。

已发现以砖块状样式包裹的 NaCl 方晶表现出比树状晶体更大的密度。另外,树状晶体不易滑动,使晶体重排发生困难,也导致对冲模壁的紧压力的更大损失<sup>[49]</sup>。工业上的布洛芬通常以拉长的针形晶体形式从正己烷中结晶。已发现由于其较差的流动性这种形状不适合压片。已有报道说,用甲醇得到的等轴晶体有较好的可压性和流动性<sup>[23,50]</sup>。已报道说,赋形剂,如纤维素粉末<sup>[51]</sup>和三水矾铝<sup>[52]</sup>等的晶体形态也能明显影响强度、含量均一性和片剂的崩解时限。

据有的报道称,吠喃妥因板状晶体比针状晶体有更好的可压性和塑性形变,而且用针状晶体制备的片剂排出后显示出更高程度的轴回复性。有人曾提出这是由于从甲酸中结晶出的板状晶体的非极性表面比从甲酸/水中结晶出的针状晶体的极性表面更大的结果。这些面的相对丰度很可能影响压片中黏合的数量和强度<sup>[53]</sup>。

斜方晶的结构特点是高的分子密度和弱的面间键。在压片过程的最初阶段,这些面充当滑动面,而引起物质微粒间的重排,因而导致体积减小。在高压下,这些晶体与单斜晶型相比有着低弹性回复力的可塑性,因此可增加压制中的接触点。由于这些原因的存在,扑热息痛的斜方晶有良好的可压性而没有顶裂的倾向<sup>[54]</sup>。已报道扑热息痛的板状晶体 Heckel 图和拉紧速率敏感性有较低的相关系数值,与多面体晶体相比这就意味着更易破裂。板状晶体压制的片剂有更高的弹性回复性,就暗示着这些晶体经受较小的塑性形变<sup>[15]</sup>。在扑热息痛晶格的分子几何学的基础上已提出沿 {010} 面的分裂沿着锯齿状路径,并且面间键属于范德华力类型。然而,沿 {110} 面和 {210} 面的分裂要求每个晶胞单位两个氢键的断裂,而且 {010} 面的最低连接能和最大切片能显示扑热息痛晶体的破碎是沿着 {010} 晶面发生的<sup>[55,56]</sup>。

微粒的压缩能改变内部结构,也能改变它们的形态。这些变化对抗晶体恢复原型的分子间力,并导致产生弹性回复。如果分子内力过大,就会发生塑性流动。已有人提出阿司匹林晶体内沿滑面的置换,是以有序的方式移动到新位置,并且分子包裹排列没有发生变化。然而,NaCl 方晶拥有很多塑性形变的潜在断面,显微镜检查没有揭示出剪切的影响。这就意味着剪切发生在 NaCl 方晶的分子水平<sup>[57]</sup>。压力的增加减少了乳糖的结晶性而产生了较硬的片剂,因为较多活化晶体分散需要微粒间的键能<sup>[58]</sup>。在缺少充分压力时,等轴 L-赖氨酸盐二水合物晶体的压缩产物显示出较宽的瑕疵(微粒间较宽的断缝),而长杆形晶体则得到了较长的瑕疵。已发现这些杆状晶体的压缩物硬度很差,可能是因为裂缝尖端的较高压力强度沿微粒间的边界扩展到很长的距离造成的<sup>[59]</sup>。另外,已发现表面结晶度的变化



显示出对片剂性能有极大的影响<sup>[60]</sup>。因此,在压制片剂过程中,等轴晶癖经受较高的密实作用并表现出在断裂位置形成新键的趋势,这样的等轴晶癖似乎为片剂处方设计提供了很大便利。

## 2. 溶出度

药物的溶出度依赖于药物微粒的物理化学性质和物理工艺特性。这些晶体的性质直接影响药物的动力学吸收,因而影响剂型的生物利用度。这对溶解度低的药物很重要,因为低溶解度使溶出度成为吸收的限速步骤。已确立通过调整化合物晶型增加溶解度。但当使用这种方法时,晶型改变对其他属性的影响,诸如稳定性、生物有效性、代谢等,则需要彻底研究。在不改变晶型的情况下调整晶体表面形态似乎为增加药物溶出度提供了一个有吸引力的替代方法。此外,为了最小化从不同批/来源得到的药物微粒的溶出度性质差异,有必要规范表面特性。

暴露于溶剂攻击的晶面的大小和数量决定了药物溶解的量。铁氰化钾晶体的有效期与液体石蜡-水临界面接触的晶面的最小长度成比例,而且晶体面的非等轴溶出度表明在溶出过程中晶体形状的变化<sup>[61]</sup>。重铬酸钾单晶的形状因素在 50% 溶出后发生明显改变,并且还依赖于晶体的非等轴程度<sup>[62]</sup>。这些报道说明溶出度性质的连续变化对某一晶癖来说是可以预料的,如杆形和针形,因为在溶出过程中晶体的优势面上存在较多溶剂攻击。

在分子水平上,溶出度可被看成是药物微粒中官能团与溶剂的相互作用。出现在药物粒子中的附加剂/杂质能改变药物与溶出介质间相互作用的强度,因而也改变了溶出特性。已发现羟丙基 $\beta$ -环糊精在抑制晶体生长和增加尼非地平溶出度方面比 PVP 更有效<sup>[63]</sup>。然而,附加剂有时甚至能减少溶出速率。已证明丙烯酸树脂和醋酸纤维素钛酸酯的混合物能改变晶癖,维持离子螯合剂的释放<sup>[64]</sup>。从氨溶液中得到的磺胺嘧啶结晶明显地降低了溶出速率,因为重结晶粒子外表面的润湿性下降,这似乎是由于结晶液体的影响引起的<sup>[21]</sup>。对液体吸引较小的官能团内化的发生取决于结晶使用的溶剂。同样,与晶体成块相关的润湿性下降已被建议用来减少从乙腈或甲醇中重结晶的布洛芬的溶出度<sup>[24]</sup>。不打乱氨溶液中磺胺嘧啶分子排列的非离子杂质,如吐温 80,不影响重结晶磺胺嘧啶的溶出度,认识到这一点很重要。另外,虽然 NaCl 作为杂质加入不能增加润湿性,但晶体的溶出度增加了。已有人提出 NaCl 由于其离子性质,能通过离子偶极的作用减少氨溶液和磺胺嘧啶的相互作用。这反过来会减少重结晶过程中氨对磺胺嘧啶分子中的官能团定位的影响,从而否认溶出延缓氨对重结晶磺胺嘧啶晶体的影响<sup>[21]</sup>。

关于通过晶癖变化来增加水溶性差药物溶出度的研究的文献资料很多。已有报道,从乙醇和丙酮中沉淀制备的布洛芬晶体比从丙二醇和 2-丙醇中得到的杆状晶体具有更好的溶出度<sup>[22]</sup>。已发现用相分离离子技术并在黏合溶剂中使用吐温 80 得到的布洛芬晶体能产生微晶,当微晶被压制

成片时,其溶出度比得上符合 USP24 要求(在 60min 时  $Q \geq 80\%$ )的商品<sup>[65]</sup>。已知水溶性差的其他药物,如阿司匹林<sup>[66]</sup>、甲灭酸<sup>[67]</sup>和依托泊苷<sup>[68]</sup>已被报道晶癖改变后有更好的溶出度。然而,溶出度增加的结果一定要谨慎地解释,因为大多数的研究目的通常不是叙述晶癖的作用,这种晶癖来源于通常伴随着药物微粒重结晶的晶型。

药物样品通常包含着晶癖的混合物。这是由于结晶过程的复杂性造成的。结晶过程中甚至容器的一个划痕或尘埃微粒的存在都可能会引发晶核形成和改变生长晶体的晶癖。由于这些混合的晶癖的存在,使溶出度性质不能归因于某一晶癖,除非这种晶癖占了一个非常大的比例。因此,为了正确描述溶出度的行为和评价不同晶面的作用,就要研究单晶。Prasad 等<sup>[69]</sup>已报道了扑热息痛在与其分子相似的 *P*-乙酸基乙酰苯胺添加物存在下生成的晶体, {001} 面和 {110} 面的溶出速度比纯扑热息痛的溶出速度快。这归因于增加溶解度的晶体张力的分布<sup>[69]</sup>。除了存在杂质,处理过程的不同也会引起这些张力的形成。在这些“张力”或“混乱”区吸收即使很少的水分也能塑化固体和加速分子移动,这将促进溶出度、化学降解和固体状态的改变,如重结晶<sup>[26,27]</sup>。

值得注意的是,属于同一筛分和多形态的甲氧苄氨嘧啶和磺胺甲噁唑的不同晶癖表现出明显不同的溶出特性。对这两种药物来说,已发现匀称的晶体溶出较快,可能是因为所有表面都一律暴露在溶出介质中。然而,有较大尺寸因子(长 $\times$ 宽)的匀称晶体在早期阶段中呈现出较低的溶出度。但在后期阶段,随着大小因子的减少,这些晶体的溶出速度增加。Zeta 电位低的匀称晶体大量聚集,并且溶出慢<sup>[16,17]</sup>。或许,这是第一次说明晶癖的变化与表面电荷的变化有关。事实上,表面电荷不仅具有影响聚集状态的能力,而且还能影响其他粉末的特性,如混合性、流动性、溶出度和溶解性。评价重结晶微粒的电泳活性似乎是合理的。然而,改变晶癖似乎为改变药物的溶出行为提供了一个方法。

## 3. 混悬液

晶癖对混悬剂性能的影响比其他剂型更为明显,因为为有更大的有效空间可用于重新定向和填塞分散的微粒,而且选择一种稳定晶癖对避免晶体的生长来说是必要的,因为晶体生长能导致混悬剂在其储藏期内物理不稳定。

对甲氧苄氨嘧啶<sup>[16]</sup>和磺胺甲噁唑<sup>[17]</sup>混悬剂的研究表明,高形状系数( $1/L \times 1/B$ )的晶体表现出高沉降容积,容易重新分散。这就表明在沉淀过程中,这些晶体可能会形成一个尾对头而不是尾对尾的结构,因为这样能引起系统自由能的减少。虽然这些不等轴晶体有高 Zeta 电位,但是它们容易引起自身的絮凝,产生一种类似脚手架的多孔填塞结构。这种结构对上层沉降颗粒的压力不敏感。另外,不规则形状的晶体因为形成团块而出现低沉降容积不易再分散。这是因为沉降过程中不规则晶体的重新定向引起了紧密填塞。值得注意的是,沉降容积的大量增加(六倍)

可以由在反絮凝混悬剂中使用甲氧苄氨嘧啶的杆形晶体获得<sup>[16]</sup>。与各自纯药物粉末相比甲氧苄氨嘧啶和磺胺甲噁唑晶体的药物动力学没有显著改变,可能是因为他们所报道的快速吸收,这使生物利用度不依赖于溶出度。然而对固有溶解度低或肠渗透性低药物的研究,提倡测试这一假设的有效性。

当设计混悬剂处方时,认识到药物官能团间相互作用导致晶癖改变的影响很重要。已有报道说,从磺胺甲噁唑的N原子到甲氧苄氨嘧啶的嘧啶N原子的质子转移发生在二者的等摩尔混合物中<sup>[70]</sup>。Bettinetti等<sup>[71]</sup>已报道了甲氧苄氨嘧啶和磺胺甲噁唑(1:1)混合物的成核过程可被水或湿法制粒加速。我们对磺胺甲基异噁唑(未公开出版的结果)的研究揭示了细小针形晶体的形成与磺胺甲噁唑和甲氧苄氨嘧啶晶体的最初形状无关,而是混悬剂中两种药物之间相互作用的结果。当两种药物的水分散体按通常出现在药物混悬剂中的数量(磺胺甲噁唑/甲氧苄氨嘧啶摩尔比为5.73:1)混合时产生小针晶[图6(a)]。用同样的处理条件,当摩尔比是3:2、1:1、2:3或1:2[图6(b)]时,就生长针形晶体,并且在35℃储藏超过2个月后,这些分散体的沉降体积为1.00。加入 $AlCl_3$ 作为絮凝剂能将原始结晶变为长针形晶体。将 $AlCl_3$ 加入到甲氧苄氨嘧啶的水分散液中,这种现象也很明显。在两种药物分散体混合前,加入HPMC(1%,质量浓度)没有产生完全的相互作用,因此发现针形晶体的形成不完全[图6(c)],且储藏后制得的分散体出现结块。当两种药物分散体混合后加入HPMC能形成完全的晶体,但其长度较短[图6(d)]。这些研究的结果表明,晶癖改变是由药物物理混合中官能团间的相互作用引起的,且处方和过程变量可改变晶癖变化的强度。这影响了混悬剂的稳定性,因此在处方设计过程中应注意避免这种晶癖改变的发生。由此推断,这一方法可以用来增加储藏中易结块的药物混悬液的物理稳定性。这可以通过利用药物和惰性物质之间的相互作用而生合成合适的晶癖得到。这种晶癖能形成多孔堵塞结构,包埋药物微粒。这种混悬液应该有很大的沉降容积,且易于再分散。但是,这种方法的可行性仍在试验中。

## 总结

晶体形态学对固体是一个很重要的属性。结晶过程变量能显著改变晶癖和表面形态。结晶,经常被用来纯化或重结晶药物粉末,可以改变晶型或晶癖,也可以同时改变二者。尽管看上去微不足道,但晶癖影响药物粉末的堵塞性、流动性、可压性、溶出度和沉降性。因此,如果一种晶型存在能改变剂型物理稳定性的明显不同的晶癖,那么选择一种稳定的晶型不能单独解决这个问题。此外,储藏过程中晶型转变或晶体生长可能伴随着晶癖的改变,而且晶格中链的发展因为杂质/添加物或处理过程引起晶癖变化从而改变了剂型的性能。因此,研究主要处理阶段的晶癖变化连同晶型变化是非常必要的。除了设计一种具有所需

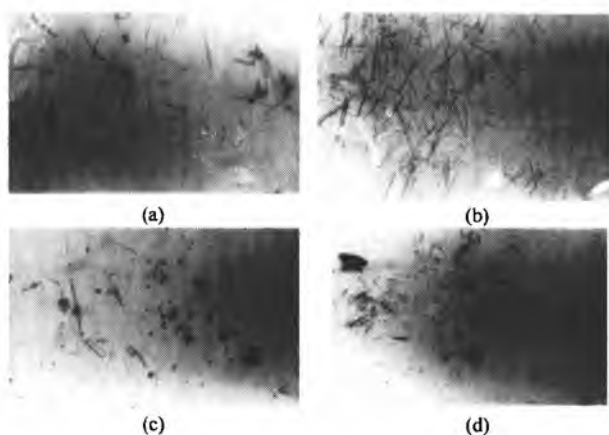


图6 晶体显微照片(放大200倍)显示磺胺甲噁唑和甲氧苄氨嘧啶水分散体相互作用后产生的晶癖变化。(a)摩尔比5.73:1;(b)摩尔比1:1;(c)HPMC在水分散体混合前加入;(d)HPMC在水分散体混合后加入

性能的稳定剂型的处方外,这也有助于维持原料性质和批次间剂型性能的均一性。

## 参考文献

1. Takubo, H.; Kume, S.; Koizumi, M. Relationship between supersaturation, solution velocity, crystal habit and growth rate in crystallization of ammonium phosphate ( $NH_4-H_2PO_4$ ). *J. Cryst. Growth* 1984, 67 (2), 217—226.
2. Halebian, J. K. Characterization of habits and crystalline modifications of solids and their pharmaceutical applications. *J. Pharm. Sci.* 1975, 64 (8), 1269—1288.
3. Grzymek, J. Control of the exterior form of crystals during crystallization. *J. Przemysl. Chem.* 1937, 21, 279—280.
4. Johnson, R. A.; O'Rourke, J. D. Kinetics of precipitate formation—Barium sulphate. *J. Am. Chem. Soc.* 1954, 76, 2124—2126.
5. Nielsen, A. E. The kinetics of electrolyte precipitation. *J. Colloid Sci.* 1955, 10, 576—586.
6. Nielsen, A. E. Nucleation in barium sulphate. *Acta Chem. Scand.* 1957, 11, 1512—1515.
7. Nielsen, A. E. Kinetics of crystal growth in barium sulphate precipitation. *Acta. Chem. Scand.* 1958, 12, 951—958.
8. Garti, N.; Karpuj, L.; Sarig, S. The effect of solvents and crystallization conditions on crystal habit of cholesterol. *Cryst. Res. Technol.* 1981, 16 (10), 1111—1115.
9. Garti, N.; Wellner, E.; Sarig, S. Effect of surfactants on crystal structure modification of stearic acid. *J. Cryst. Growth* 1982, 57 (3), 577—584.
10. Carstensen, J. T.; Ertell, C.; Geoffroy, J. M. Physico-

- chemical properties of particulate matter. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (1-2), 195-219.
11. Raghavan, S. L.; Trividic, A.; Davis, A. F.; Hadgraft, J. Crystallization of hydrocortisone acetate; Influence of polymers. *Int. J. Pharm.* 2001, 212, 213-221.
  12. Tipson, R. S. Separation and Purification Part 1; Weissberger, A., Ed.; Interscience; New York, 1956, Vol. 3, 433.
  13. Carstensen, J. T. Theory of Pharmaceutical Systems; Heterogeneous System; Academic Press; New York, 1973, Vol. 2, 145, 262.
  14. Griesser, U. J.; Burger, A.; Mereiter, K. The polymorphic drug substances of the European pharmacopoeia. Part 9. Physicochemical properties and crystal structure of acetazolamide crystal forms. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86 (3), 352-358.
  15. Garekani, H. A.; Ford, J. L.; Rubinstein, M. H.; Riajbi-Siahboomi, A. R. Formation and compression characteristics of prismatic polyhedral and thin plate like crystals of paracetamol. *Int. J. Pharm.* 1999, 187 (1), 77-89.
  16. Tiwary, A. K.; Panpalia, G. M. Influence of crystal habit on trimethoprim suspension formulation. *Pharm. Res.* 1999, 16 (2), 261-265.
  17. Tiwary, A. K.; Panpalia, G. M. Enhanced suspension stability; Choice of crystal habit. *Indian J. Pharm. Sci.* 2000, 62 (4), 267-272.
  18. Davey, R. J. Solvent Effects in Crystallization Processes. In *Current Topics in Material Science*; Kaldis, E., Ed.; Elsevier; Amsterdam, 1982; Vol. 8, 429-479.
  19. Marshall, P. V.; York, P. Crystallization solvent induced solid-state and particulate modifications of nitrofurantoin. *Int. J. Pharm.* 1989, 55, 257-263.
  20. Fini, A.; Garuti, M.; Fazio, G.; Alvarez-Fuentes, J.; Holgado, M. A. Diclofenac salts. 1. Fractal and thermal analysis of sodium and potassium diclofenac salts. *J. Pharm. Sci.* 2001, 90 (12), 2049-2057.
  21. Hammouda, Y. E.; El-Khordagui, L. K.; Darwish, I. A.; El-Kamel, A. H. Manipulation of powder characteristics by interactions at the solid-liquid interface: 1-sulphadiazine. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1999, 8, 280-283.
  22. Khan, G. M.; Jiabi, Z. Preparation, characterization and evaluation of physicochemical properties of different crystalline forms of ibuprofen. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1998, 24 (5), 463-471.
  23. Garekani, H. A.; Sadeghi, F.; Badiie, A.; Mostafa, S. A.; Rajabi-Siahboomi, A. R. Crystal habit modifications of ibuprofen and their physicochemical characteristics. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 2001, 27 (8), 803-809.
  24. Rasenack, N.; Muller, B. W. Properties of ibuprofen crystallized under various conditions; A comparative study. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2002, 28 (9), 1077-1089.
  25. Stainforth, J. N.; Rees, J. E.; Kayes, J. B.; Priest, R. C.; Cotterill, N. J. The design of a direct compression tablet excipient. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1981, 7 (1), 179-190.
  26. Ahlneck, C.; Zografi, G. The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drugs in the solid state. *Int. J. Pharm.* 1990, 62, 87-95.
  27. Gerhardt, S. A.; Ahlneck, C.; Zografi, G. Assessment of disorder in crystalline solids. *Int. J. Pharm.* 1994, 101, 237-247.
  28. Whetstone, J. Crystal habit modification of inorganic salts with dyes. II. Relationship between the structure of crystals and habit-modifying dyes. *Trans. Faraday Soc.* 1955, 51, 1142-1153.
  29. Whetstone, J. Crystal symmetry and the adsorption of dyes by growing crystals. *J. Chem. Soc.* 1956, 4841-4847.
  30. Whetstone, J. Crystal symmetry and the adsorption of dyes by growing crystal. II. Potassium nitrate. *J. Chem. Soc.* 1957, 4284-4289.
  31. Michaels, A. S.; Colville, A. R., Jr. The effect of surface active agents on crystal growth rate and crystal habit. *J. Phys. Chem.* 1960, 64, 13-19.
  32. Michaels, A. S.; Tausch, F. W., Jr. Modification of growth rate and habit of adipic acid crystals with surfactants. *J. Phys. Chem.* 1961, 65, 1730-1737.
  33. Faribrother, J. E.; Grant, D. J. W. Crystal engineering studies with an excipient material (adipic acid). *J. Pharm. Pharmacol.* 1979, 31, Suppl., 27 pp.
  34. Davey, R. J.; Black, S. N.; Logan, D.; Maginn, S. J.; Fairbrother, J. E.; Grant, D. J. W. Structural and kinetic features of crystal growth inhibition; Adipic acid growing in the presence of n-alkanoic acids. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1992, 88 (23), 3461-3466.
  35. Chow, K. Y.; Go, J.; Mehdiazadeh, M.; Grant, D. J. W. Modification of adipic acid crystals; Influence of growth in the presence of fatty acid additives on crystal properties. *Int. J. Pharm.* 1984, 20, 3-24.
  36. Williams-Seton, L.; Davey, R. J.; Liebermann, H. F.; Pritchard, R. G. Disorder and twinning in molecular crystals; Impurity-induced effects in adipic acid. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (3), 346-354.
  37. Simonelli, A. P.; Mehta, S. C.; Higichi, W. I. Dissolu-

- tion rates of high energy sulphathiazole-povidone coprecipitates II: Characterization of form of drug controlling its dissolution rate via solubility studies. *J. Pharm. Sci.* 1976, 65 (3), 355—361.
38. Laine, E.; Tuonien, V.; Ilvessalo, P.; Kahela, P. Formation of dehydrate from carbamazepine anhydrate in aqueous conditions. *Int. J. Pharm.* 1984, 20, 307—314.
39. Katzhendler, I.; Azoury, R.; Friedman, M. Crystalline properties of carbamazepine in sustained release hydrophilic matrix tablets based on hydroxypropylmethyl cellulose. *J. Contr. Rel.* 1998, 54, 69—85.
40. Katzhendler, I.; Azoury, R.; Friedman, M. The effect of egg albumin on the crystalline properties of carbamazepine in sustained release hydrophilic matrix tablets and in aqueous solutions. *J. Contr. Rel.* 2000, 65, 331—343.
41. Garekani, H. A.; Ford, J. L.; Rubinstein, M. H.; Rajabi-Siahboomi, A. R. Highly compressible paracetamol: I: Crystallization and characterization. *Int. J. Pharm.* 2000, 208 (1—2), 87—99.
42. Kachrimanis, K.; Nikolakakis, I.; Malamataris, S. Spherical crystal agglomeration of ibuprofen by the solventchange technique in presence of methacrylic polymers. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (2), 250—259.
43. Prasad, K. V.; Ristic, R. I.; Sheen, C. B.; Sherwood, J. N. Crystallization of paracetamol from solution in the presence and absence of impurity. *Int. J. Pharm.* 2001, 215 (1—2), 29—44.
44. Jaffe, J.; Foss, N. E. Compression of crystalline substances. *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* 1959, 48, 29.
45. Alpar, O.; Hersey, J. A.; Shotton, E. Compression properties of lactose. *J. Pharm. Pharmacol.* 1970, 22, Suppl. 1S.
46. Simmons, D. L.; Ranz, R. L.; Gyanchandani, N. D. Polymorphism in pharmaceuticals. III. Chlorpropamide. *Can. J. Pharm. Sci.* 1973, 8, 125—127.
47. Windheuser, J. J.; Misra, J.; Eriksen, S. P.; Higuchi, T. Physics of tablet compression XIII: Development of die wall pressure during compression of various materials. *J. Pharm. Sci.* 1963, 52 (7), 767—772.
48. Nakagawa, H.; Fukuoka, E.; Nakai, Y. Preferred orientation of crystalline particles within tablets III—Change in degree of preferred orientation of aspirin crystals during compression. *Yakugaku Zasshi* 1979, 99, 936—943.
49. Shotton, E.; Obiorah, B. A. The effect of particle shape and crystal habit on properties of sodium chloride. *J. Pharm. Pharmacol.* 1973, 25 (Suppl. 37), 43.
50. Gordon, R. E.; Amin, S. I.; Crystalline Ibuprofen. *Eur. Patent EP 120, 587*, October 03, 1984.
51. Szabo-Revesz, P.; Pintye-Hodi, K.; Miseta, M.; Selmeezi, B. Tableting with cellulose products. Powdered cellulose as an excipient for direct compression. *Pharm. Ind.* 1992, 54 (1), 79—81.
52. Veessler, S.; Boistelle, R.; Delacourte, A.; Guyot, J.-C.; Guyot-Herman, A.-M. Influence of structure and size of crystalline aggregates on their compression ability. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1992, 18 (5), 539—560.
53. Marshall, P. V.; York, P. The compaction properties of nitrofurantoin samples crystallized from different solvents. *Int. J. Pharm.* 1991, 67, 59—65.
54. Joiris, E.; DiMartino, P.; Berneron, C.; Guyot-Herman, A.-M.; Guyot, J.-C. Compression behaviour of orthorhombic paracetamol. *Pharm. Res.* 1998, 15 (7), 1122—1130.
55. Prasad, K. V.; Sheen, D. B.; Sherwood, J. N. Fracture property studies of paracetamol single crystals using microindentation techniques. *Pharm. Res.* 2001, 18 (6), 867—872.
56. Finnie, S.; Prasad, K. V.; Sheen, D. B.; Sherwood, J. N. Microhardness and dislocation identification studies on paracetamol single crystals. *Pharm. Res.* 2001, 18 (5), 674—681.
57. Hess, H. Tablets under the microscope. *Pharm. Technol.* 1978, 2 (9), 38—57.
58. Huettnerrauch, R. Mechanism of the particle size effect during tableting. *Pharmazie* 1977, 32 (2), 130—131.
59. Bandyopadhyay, R.; Grant, D. J. Influence of crystal habit on the surface energy and interparticulate bonding of Llysine monohydrochloride dihydrate. *Pharm. Dev. Technol.* 2000, 5 (1), 27—37.
60. Buckton, G. Surface characterization: Understanding sources of variability in the production and use of pharmaceuticals. *J. Pharm. Pharmacol.* 1995, 47, 265—275.
61. Schoonen, A. J.; de Vries, N. G. W.; Huizinga, T. Solution rate of crystals at fluid-fluid interface. *J. Pharm. Sci.* 1979, 68 (2), 163—168.
62. Dali, M. V.; Carstensen, J. T. Effect of change in shape factor of a single crystal on its dissolution behaviour. *Pharm. Res.* 1996, 13 (1), 155—162.
63. Uekama, K.; Ikegami, K.; Wang, Z.; Horiuchi, Y.; Hirayama, F. Inhibitory effect of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on crystal growth of nifedipine during storage: Superior dissolution and oral bioavailability compared with polyvinylpyrrolidone K-30. *J. Pharm. Pharmacol.* 1992, 44 (2), 73—78.

64. Venkataram, S.; Khohlokwane, M. Microencapsulation of an iron chelator for sustained release and crystal habit modification. *J. Microencapsulation* 1996, 13 (5), 519—525.
65. Umprayn, K.; Luengtummueng, A.; Kitiyadisai, C.; Pornpipitsakul, T. Modification of crystal habit of ibuprofen using the phase partition technique; Effect of aerosol and tween 80 in binding solvent. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2001, 27 (10), 1047—1056.
66. Goczó, H.; Szabo-Revész, P.; Farkas, B.; Hasznos-Nezdei, M.; Serwanis, S. F.; Pintye-Hodi, A. K.; Kassa, P., Jr.; Eros, I.; Antal, I.; Marto, S. Development of spherical crystals of acetylsalicylic acid for direct tablet-making. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48 (12), 1877—1881.
67. Adam, A.; Schrimpl, L.; Schmidt, P. C. Some physicochemical properties of mefenamic acid. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (5), 477—487.
68. Shah, J. C.; Chen, J. R.; Chow, D. Metastable polymorph of etoposide with higher dissolution rate. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (1), 63—67.
69. Prasad, K. V.; Ristic, R. I.; Sheen, D. B.; Sherwood, J. N. Dissolution kinetics of paracetamol single crystals. *Int. J. Pharm.* 2002, 238 (1—2), 29—41.
70. Nakai, H.; Takasuka, M.; Shiro, M. X-ray and infrared spectral studies of the ionic structure of trimethoprim-sulphamethoxazole 1: 1 molecular complex. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1984, II, 1459—1464.
71. Bettinetti, G.; Caira, M. R.; Callegari, A.; Merli, M.; Sorrenti, M.; Tadini, C. Structure and solid-state chemistry of anhydrous and hydrated crystal forms of the trimethoprim-sulphamethoxypyridazine 1: 1 molecular complex. *J. Pharm. Sci.* 2000, 89 (4), 478—489.
72. Tiwary, A. K. Modification of crystal habit and its role in dosage form performance. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2001, 27 (7), 699—709.

(李 军 译)

# J

## 镜片护理产品

Masood Chowhan

Ralph Stone

Alcon Laboratories, Fort Worth, Texas, U. S. A.

## 引言

隐形眼镜由高分子材料构成，用于矫正视力。这些镜片在佩戴一定时间后需要从眼睛中取出，为避免眼部感染和其他并发症，在下次佩戴前需用镜片护理产品来清洁、灭菌和冲洗。与此同时镜片护理产品还可用于改善佩戴的舒适感。

## 历史概况

相对于其他的许多医药产品，镜片护理产品是比较新的。Leonard da Vinci 是第一个构想出隐形眼镜的人。1508 年他阐述了视觉的概念，用一个充满水的球覆盖眼睛形成了倒置的影像。但是，隐形眼镜真正的发展要追溯到 100 年前（1887~1888 年）巩膜隐形眼镜的出现。这一产品的发明人是苏黎世医生 Frick、德国的义眼制造商 Mueller 和法国医生 Eugene Kalt。最早的镜片是由玻璃制成的。在 20 世纪 30 年代后期（1937~1939 年），用甲基丙烯酸甲酯（PMMA）制成了塑料隐形眼镜，这应归功于 Mullen、Ob-rig 和 Gyorrffy。但是，1948 年 Kevin Tuohy 申请了隐形眼镜的设计专利，他被认为是现代角膜隐形眼镜之“父”。这些早期的镜片坚硬有不适感，并且氧气透过率低，硬质镜片技术的进步产生了具有氧透过性的能维护角膜的健康材料。在 20 世纪 60 年代，Otto Victorle 以聚羟乙甲基丙烯酸酯（HEMA）研制了亲水性的软型隐形眼镜。现在所用的主要都是这种亲水型的镜片。从那时起，在透镜材料、设计和制造工艺中取得了重大的技术进步。1990 年，仅美国隐形眼镜的佩戴者估计就有 3000 万人。

第一个药品级的镜片护理产品的商业化是在 20 世纪 50 年代。Barnes-Hind 公司的创始人药剂师 Harry Hind 被认为是最早研制一种硬质 PMMA 塑料镜片储存用的润湿溶液并使之商业化的人之一。在他之前，文献提到过用于玻璃制成的巩膜镜片、含有碳酸氢钠的盐水溶液处方。

## 目前的隐形眼镜材料和发展方向

大部分目前用于生产隐形眼镜的材料自 20 世纪 60 年代中期就有了，除了聚甲基丙烯酸酯，镜片材料大致分为以下几类：

硬质透气性镜片：

- 纤维素乙酰丁酯；

- 硅酮；
- 硅酮丙烯酸酯；
- 氟硅酮丙烯酸酯；
- *t*-丁基苯乙烯；
- *t*-丁基苯乙烯-硅酮丙烯酸酯。

软质亲水镜片

- 聚羟乙甲基丙烯酸酯；
- 聚羟乙甲基丙烯酸酯-甲基丙烯酸共聚物；
- 聚甘油甲基丙烯酸酯；
- 聚羟乙甲基丙烯酸酯-聚乙烯吡咯烷酮共聚物；
- 聚乙烯吡咯烷酮-甲基丙烯酸甲酯；
- 聚羟乙甲基丙烯酸酯-硅酮共聚物（硅酮水凝胶）。

除此之外，其他材料如聚氨酯、聚砜、聚乙烯醇和多种共聚物也曾试用或处于开发阶段。最近，具有高度氧透过性的硅酮水凝胶镜片已经上市。材料开发的趋势将包括继续针对高透氧性、抑制角膜代谢物蓄积的聚合物，以避免在镜片表面沉积和抑制细菌黏附在镜片表面的材料，从而减少眼睛感染的可能。

### 1. 目前上市的隐形眼镜的分类

20 世纪 70 年代中期开始的一段时间内，许多亲水性和硬质透气镜片开始上市。尽管它们基本的化学组成相同，但为了获得较满意的性质或回避已有专利，它们都添加了一些组分。这种隐形眼镜材料多种多样的状况，给 FDA 批准隐形眼镜和其护理产品的标准带来了困惑。20 世纪 80 年代中期，FDA 和镜片生产商协定了基于镜片材料的离子或非离子性质和含水量的软质隐形眼镜分类；基于高分子的化学性质也对硬质透气镜片（rigid gas-permeable, RGP）进行了分类。有趣的是，隐形眼镜和其护理产品最初认为是药物。直到 1996 年美国医用装置法案通过，隐形眼镜被重新分类为装置，隐形眼镜和其护理产品被划归为Ⅲ级装置，必须上市前填写批准申请表，在获得 FDA 批准后上市。最近这些产品被重新分类为Ⅱ级装置，按该法规的 510 (k) 上市前申明要求，现已获准上市。

### 2. 按功能用途分类的镜片护理产品

市售镜片护理产品主要分为以下几种：清洁剂、消毒剂、润滑剂和多功能产品。清洁剂又分为日用和周用型。消毒剂包含化学抗微生物的溶液（镜片不需要加热消毒）和防腐或不防腐的生理盐水（镜片使用电热装置消毒）这些产品也用于冲洗隐形眼镜。镜片润滑剂在佩戴之前和佩戴过程中使用，用以增加佩戴的舒适感。多用途溶液具备

了两个或更多前面提到的功能（清洁、冲洗和消毒）。

硬质镜片护理包括调节溶液，用于佩戴时润湿其中的疏水性聚合物。

## 用于清洁软质隐形眼镜的产品

### 1. 镜片沉积物

#### 1.1 成分

主要有两种沉积物，分别来源于泪液成分和其他途径。泪液成分，特别是蛋白质能在透镜表面沉积。这些蛋白质在吸附于组织的过程中可能变性或发生结构改变。大多数沉积物，除了那些与透镜紧密黏着的，都可以很容易地用表面活性剂类的日用清洁剂清除。来源于泪液成分的沉积物包括类蛋白质的沉积物：溶菌酶、乳铁转运蛋白、白蛋白、球蛋白等。类蛋白质沉积物出现在所有类型的透镜中，但是它们的数量随着透镜表面或内部电荷量、孔径大小和聚合物相对疏水性的不同而异。比如，常用的无孔无电荷具有疏水表面的硬质 PMMA 镜片就很少吸附类蛋白质沉积物。在具有亲水表面的软质隐形眼镜中，沉积物的程度随着其种类不同而异。比如，第 4 类镜片，由于含有甲基丙烯酸而具很多负电荷，很容易与带有正电荷的类蛋白质（溶菌酶）相互作用。第 2 类水凝胶镜片没有电荷，但气孔较大，所以能吸附相当多的蛋白质。除了蛋白质沉积物，

透镜表面还有一些脂质沉积物。由于脂质沉积物的亲脂性，通常多见于硬质透气性镜片中。这种沉积物包括胆固醇酯、蜡酯、甘油三酯、甾醇和脂肪酸等。在泪液中的钙形成碳酸钙或磷酸钙沉积物以及所谓的混合沉积物（钙与有机化合物结合）。这种沉积物主要存在于高含水的软质透镜中，而且很难不损坏透镜而除去。其他的沉积物源于患者的环境，包括由化妆品和发胶以及佩戴时环境中的花粉、灰尘等引起的。

#### 1.2 与透镜沉积物有关的问题

清洁是在隐形眼镜护理中最重要的步骤之一。这有助于清除表面的灰尘和污染的微生物，从而促进除菌的过程。不恰当地清洗透镜可造成不适、红眼、视力下降和巨突结膜炎（GPC）。有 GPC 症状不能继续佩戴隐形眼镜，至少要等到症状消除。从热到冷的灭菌技术和采用抛弃型镜片可以减少 GPC 的发生。但是，由于这种镜片可以长达 7 天佩戴，不用清洗，GPC 也可能发生，这在文献中已提到。

### 2. 透镜清洗剂的分类

#### 2.1 日用清洗剂和周用清洗剂

日用清洗剂通常含有表面活性剂，每天使用。它经常含有提高产品性能的摩擦剂（去除沉淀）颗粒。表 1 列出了含有摩擦颗粒的常见日用清洁剂。

表 1 含有沉积物摩擦剂颗粒的日用清洁剂

商品名	生产商	粒子类型	用于
OPTI-CLEAN	Alcon	尼龙	软质，PMMA，RPG
OPTI-CLEAN II	Alcon	尼龙	软质，PMMA，RPG
OPTI-FREE 日用	Alcon	尼龙	软质，PMMA，RPG
Boston 清洁剂	Polymer technology	硅	PMMA，RPG
Boston 高级清洁剂	Polymer technology	硅	PMMA，RPG

有两种周用清洁剂：一种是含酶的；另一种是含高浓度表面活性剂的。含酶的日用产品易为患者所接受和镜片

从业者推荐。常见的含酶产品列于表 2 中。

表 2 用于隐形眼镜的含酶产品

商品名	生产商	酶	来源	剂型
OPTI-FREE 含酶清洁剂	Alcon	胰酶	哺乳动物	片剂
OPTI-ZYME 含酶清洁剂	Alcon	胰酶	哺乳动物	片剂
SupraClens 日用蛋白质清除剂	Alcon	胰酶	哺乳动物	液体
Allergan 含酶镜片清洁剂	Allergan	木瓜蛋白酶	植物	片剂
ProFree/GP 周用含酶清洁剂	Allergan	木瓜蛋白酶	植物	片剂
Ultrazyme 含酶清洁剂	Allergan	枯草杆菌蛋白酶 A	微生物	片剂
ReNu 泡腾含酶清洁剂	Bausch & Lomb	枯草杆菌蛋白酶	微生物	片剂
ReNu 含酶热用清洁剂	Bausch & Lomb	枯草杆菌蛋白酶	微生物	片剂
过敏眼用含酶清洁剂	Bausch & Lomb	枯草杆菌蛋白酶	微生物	片剂

## J

## 2.2 眼内与眼外清洁剂

大多数市售清洁剂都是眼外清洁剂,但最近的趋势是开发镜片佩戴时使用的清洁剂。对于佩戴时间较长的(如一周),不是每日取下的镜片,这种清洁剂有优势。通常这种清洁剂在镜片表面已形成的沉积物清洁时效果不好,但对延缓沉积物的形成起作用。

## 2.3 消费者使用的与专业使用的清洁剂

镜片佩戴者使用的日用或周用清洁剂都是十分安全的,即使被误用,也不会损害视力。专业的清洁剂很有效,但如果不正确使用,却也有害。如果频繁使用这样的清洁剂很可能会损伤镜片。

## 3. 镜片清洁剂的有效成分

## 3.1 表面活性剂

表面活性剂大体上分为非离子、阴离子、阳离子和两性活性剂。非离子和两性表面活性剂常用作隐形眼镜清洁剂,因为强阴离子表面活性剂对角膜有害。制造商推荐的程序操作除了结合非常紧密的变性蛋白外,能去除数种沉积物、脂质和黏蛋白。表面活性剂型的清洁剂还能有效地去除镜片上超过 99.9% 的微生物污染。其作用机理有几种,如降低表面张力后,表面的污染物结合变松,通过机械力作用将污染物从表面除去。此外,表面活性剂能起到乳化和胶束增溶作用,还能阻止或延缓污染物的沉积。

## 3.2 酶

酶是一种生化分子,与某些化学键断裂的催化反应有关。它们的清洁机理包括进攻底物蛋白、脂质和黏蛋白沉积物,将这些物质分解成小分子,这些小分子通过食指的摩擦和冲洗的机械作用可很容易除去。市售产品含有不同的酶,如胰酶、番木瓜酶和枯草杆菌蛋白酶,番木瓜酶和枯草杆菌蛋白酶仅有蛋白水解性,而胰酶是一种广谱酶,含有消化蛋白质、脂质和黏液素的蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶。酶清洁剂对几乎所有的镜片蛋白,包括不能被表面活性清洁剂清除的物质,以及紧密键合和变性沉积物均有效。传统的隐形眼镜酶清洁通常建议一周用一次。浸泡时间从 15min 到过夜不等,继以消毒程序。但是,最近问世的产品可在每日消毒的过程中同时使用。某些推荐的用于同步清洁和消毒的酶产品,采用热或化学方法,可增加方便和佩戴者的依从性。

## 3.3 氧化剂

过硼酸钠和过碳酸钠也作为氧化剂曾用于清洁镜片。在美国,这一用途的产品目前并无市售。由于它们会损害镜片高分子,早期的产品已被撤市。

## 3.4 沉积物清除粒子

清除沉积物的粒子以混悬形式加入某些日用清洁剂中。

由于这些处方能除去结合和变性沉积物,所以比日用表面活性剂类的清洁剂更为有效。一些市售产品含有聚合物粒子或硅。按推荐方法使用,这样的产品很有效且不会划伤镜片。

## 3.5 螯合剂

在镜片护理产品中,常添加如 EDTA 一类的螯合剂,用于加强防腐剂的抗菌活性以及从镜片中除去钙和镁。对于钙和镁,EDTA 是一种最有效的螯合剂。使用的螯合剂还有磷酸盐,它对除铁最为有效。

## 3.6 溶剂

在日用清洁剂中加入异丙醇之类的溶剂以辅助除去脂质沉积物。但有报道称,这类溶剂会影响某些镜片材料,尤其是丙烯酸硅硬质透气镜片。

## 4. 辅助清洁产品

## 4.1 洗手皂

在隐形眼镜的日常护理中,要求佩戴者在佩戴镜片前要用肥皂洗手和不含棉绒的毛巾擦干。此外,应彻底洗手并进行冲洗,以免转移到镜片上的残留肥皂引起眼部刺激。所以选择专用的肥皂很重要。正是基于这些考虑,为隐形眼镜使用者专门设计了一些洗手皂。

## 4.2 清洁装置

日常清洁镜片的方法是在镜片表面使用清洗液后,在食指和拇指间擦拭镜片,或将镜片放在掌上以食指摩擦。然而,市场上也有一些专用于清洁镜片的装置。据说这种装置清洁镜片更有效,且能避免可能的手指划痕。这种装置包括机械搅拌,由人工或电动操作。超声装置主要在镜片从业者办公室使用。这些装置自身没有一个对除去紧密黏结变性蛋白是有效的。

## 用于隐形眼镜消毒的产品

隐形眼镜的消毒是很重要的一步,尤其在预防眼睛刺激、红眼病和由绿脓杆菌感染引起的角膜溃疡导致的视力下降时。亲水性软质隐形眼镜的孔径为 3.0~7.0 nm,比 0.2~1.0 μm 的细菌和 2~6 μm 的真菌要小得多,甚至 25~200 nm 的病毒也要大于软质镜片的孔径。没有任何一种微生物能透过完整的镜片骨架。但是,如果镜片没有正确的护理,一些真菌的生长能促使真菌菌丝渗透到镜片骨架中去。

隐形眼镜与其容器可经常被微生物污染,尽管研究表明有 30% 镜片的盒子被污染,但由此引起的永久性眼损伤的发生概率是很低的。不过,为了避免眼部感染和视力损伤,关键在于正确指导隐形眼镜佩戴者和强调消毒的重要性。



## 1. 热消毒与化学消毒

热和化学方法都用于软质隐形眼镜的消毒。前法是将装有镜片的盒子浸入带有加热部件的生理盐水中。目前FDA要求镜片盒内部至少80℃历时10min。这能确保消除眼部病原体的生长型,但这不能对付孢子体。

化学方法包括一些具有广谱抗菌和灭菌性能的化合物。FDA指导原则包括所有消毒溶液有效性的测定方法。最初的测定过程定义为在消毒过程中微生物的清除或降低。FDA为生产者提供了一种方法来检测故意污染的隐形眼镜,随后列出包括清洁和漂洗的完整的消毒方案。该检测通常称为FDA检测方案。FDA指导原则详细说明了有机体的种类和水平以及检测的细节。其他方法如紫外灯、微波和超声波等也曾试用于镜片的消毒,但由于无效或对镜片材料有害而没有得到广泛应用。

热消毒方法的优点是它能确保生长型微生物的彻底清除,而化学消毒法可能遇到耐受性微生物。尽管从微生物学的观点来看热方法更可取,但它有一些缺点:这是一种较为复杂的方法,因为其中包括电子装置。电子加热元件的故障是潜在污染眼镜的危险源。有故障的元件和不正确的使用可能导致使用者触电和发生火灾,这些都已报道。如果在加热过程中由于疏忽没有拧紧镜片盒的盖子,镜片容器中的盐溶液可能会蒸发,导致镜片损坏。已有记载热消毒缩短镜片寿命和加速镜表面沉积物的形成,尤其是发生在热消毒前镜片没有恰当清洗。这种方法对于缺乏电源插座的露营者尤为不可行。

作为对比,化学消毒对杀死微生物不及热消毒法有效,但也有些优点:易于使用,能确保更好的用户顺从性;不需要每天加热处理,使得镜片寿命更长。这一方法较少出现由于不恰当的清洗导致的污染物沉积问题,因未加热,镜片不被烘烤。

在较大程度上,选择热还是化学消毒取决于镜片专业人士的建议。影响因素包括佩戴者对防腐剂的敏感性、需要、个人卫生习惯和产品费用等方面。目前加热的消毒装置较少。

## 2. 热消毒

美国软性隐形眼镜于1972年问世,那时热消毒法是唯一的方法,使用防腐或非防腐的生理盐水溶液。

### 2.1 非防腐与防腐生理盐水溶液

在药用生理盐水溶液商品化前,隐形眼镜使用者用盐片和蒸馏水制备这种溶液。这种方法不能令人满意,因产生诸如溶液pH和渗透压不可控等问题,常引起一些软质镜片参数变化。主要的问题是依从性不好。为了降低成本,使用自来水替代蒸馏水制备盐溶液,而造成了镜片表面的矿物质沉积。由于用储存数天的蒸馏水制备的未消毒的生理盐水溶液中微生物会增生,佩戴时的眼睛镜片直接与其水合。这样的滥用会引起影响视力的眼部感染。20世纪80

年代中期,产品标签和包装上就注明了在隐形眼镜护理品中禁用自来水。20世纪70年代中期,加有硫柳汞灭菌药的生理盐水溶液出现,这消除了自制生理盐水溶液的缺点。但是,硫柳汞会导致镜片变成褐色或灰色,某些患者也会发生红眼病和过敏反应。在药用生理盐水溶液出现后不久,盐片就从市场上消失了。然而随着由硫柳汞引起的红眼病和过敏的出现,盐片又再次出现。1987年,因为出现了由棘阿米巴引起的角膜炎而引起的一些隐形眼镜佩戴者严重视力下降的事故,FDA要求出售盐片的公司主动撤销这类产品。这些问题都大多数与使用盐片自制的盐溶液有关。

目前美国市售的生理盐水溶液分为防腐和非防腐两种,都是灭菌和药用规格。非防腐型溶液用在单剂量或多剂量的塑料容器和多剂量气雾剂中。后者的加压容器和阀结构可防止在使用过程中溶液接触微生物,因此能维持无菌效果,更优于有效多剂量塑料容器中的非防腐盐溶液。所以在气雾容器中的非防腐生理盐水溶液优于防腐生理盐水溶液,因为它消除了由硫柳汞和山梨酸防腐的生理盐水溶液引起的发炎和过敏反应,以免相当多的患者有不适感需要暂停佩戴镜片。但是一些较新的Polyquad和Dymed防腐剂不会引起所述的明显反应。单剂量的非防腐生理盐水溶液的缺点是成本较高,而且佩戴者经常将镜片留在非防腐生理盐水溶液的镜片盒中长达数周,没有进行适当的消毒,也存在潜在的眼部感染的危险。非防腐生理盐水溶液不能抑制微生物的增殖。

与此相比,当不佩戴的镜片存放在镜片盒中时,防腐生理盐水溶液可以预防细菌的生长。与那些加压容器的单剂量或多剂量的非防腐生理盐水溶液相比,防腐生理盐水溶液的成本低。如前所述,防腐生理盐水溶液主要缺点就是防腐剂(如硫柳汞、山梨酸等)会引起一些患者发炎和过敏。但是,这些反应不会对视力构成威胁。大多数症状不需要药物治疗可随停用而消失。且由于新的防腐剂(如Polyquad和Dymed等)的出现,这些症状已消失或大为减少。

防腐和非防腐生理盐水溶液都是多功能溶液。在热消毒之外,在清洁镜片时它们也用于溶解含酶片,在清洗和化学消毒后作为漂洗溶液和镜片储存液。

### 2.2 热消毒装置

FDA指南规定电加热消毒装置最低要求是镜片要在镜片盒中的生理盐水溶液中进行80℃消毒10min。市场有一些装置满足这些要求,仅温度-时间的量变曲线不同,某些属于FDA第4类的镜片,如离子型,高含水量镜片,不能经受重复的热处理,否则镜片会褪色,通常这类镜片不能热消毒。目前市场上有一种温度自控调节装置,当达到一定的温度时就会断电,患者不必切断开关。但有时这种装置会发生故障。

目前市售的装置与早期的显著不同。最初的装置类似于“婴儿保温奶瓶”。镜片放在一个置于电加热器水槽的镜片盒中。在水槽中的温度达到水的沸点后消毒30min。为

## J

使镜片不仅要消毒还要灭菌,装置应能达到 120℃ 20min,以便彻底清除生长型病原体和孢子。但由于高温损伤镜片中的高分子,所以这种装置是不成功的。现今趋势是开发一种加热装置,它能在 80℃ 以下确保眼部生长型病原体的清除。

### 3. 化学消毒剂(氧化和非氧化型)

化学消毒溶液有两种:一种是含非氧化化学抗菌剂的,在使用的浓度范围内是无毒的;另一种是含有氧化物的,在用于消毒时是有毒的,但能在使用一定时间或者使用一种中和剂使之降解为无毒物质。在 20 世纪 80 年代中后期,由于含氧化物(尤其是过氧化氢)的消毒剂中无引起红眼和过敏性的防腐剂,这种消毒剂受到镜片从业者的欢迎。但是,由于与过氧化氢一起使用的中和溶液中通常含有能引起眼睛反应的防腐剂。镜片从业者欣赏过氧化氢能降解成无害的水和氧气这一点。使用这类产品很少观察到过敏反应,但是由低浓度的未降解的氧化剂产生的自由基对眼睛的长期毒性还不确切。如果没有正确使用产品或佩戴时没有先中和过氧化氢,过氧化氢可导致严重的毒性反应。

理想的化学消毒剂应具备下列性质:具有极好的佩戴者依从性,没有刺激性和过敏性,使用方便。与早期的防腐剂相比,在细胞毒性方面包括对上皮和内皮细胞的影响以及维持角膜有丝分裂的能力,应相对无毒。它必须具有足够的抗菌谱,短时间浸泡就能够清除眼病原体;它不能或极少黏结于镜片表面;它应与镜片相容性好,不会导致脱色或改变有色隐形眼镜的颜色。

用于软质镜片的过氧化氢消毒系统最初在 20 世纪 70 年代早期试用,由于化学品潜在的毒性、多步骤的复杂性和成本,这一体系没有被 FDA 批准。在经过重大改进后,20 世纪 80 年代早期 FDA 批准了过氧化氢消毒系统。

目前在美国市售的所有氧化剂类产品都包含有过氧化氢。在国际市场上也有释放氯的产品。这些产品通常适用于亲水性软质镜片的消毒,但不适用于硬质透气镜片。大部分过氧化氢分解是通过催化降解(铂金环);使用丙酮酸盐、亚硫酸氢钠或硫代硫酸钠进行化学中和;稀释并冲洗以及进行酶中和(催化酶)。

过氧化氢降解生成水和氧气,因此镜片从业者认为它是优秀的产品。但是,在第二步中使用的中和剂包括硫柳汞、山梨酸这些防腐剂和锡酸盐、磷酸盐这些稳定剂。因此带来与这些成分相关的问题。另外,由于在中和剂中没有使用防腐剂,这种产品在意外污染后易于生长微生物。市面上也有含有过氧化氢的一步消毒产品,它很方便,但也有相似的缺点,即在消毒的最后环节没有任何防腐剂作用。不同公司推荐的消毒时间从 10min 到过夜浸泡不等。这种消毒剂抗菌谱很广,消毒速度较快。但其缺点是如果没能遵守操作规程会有毒性,使用复杂,一旦消毒后对微生物再次污染无保护作用。

第一代非氧化化学消毒溶液含有硫柳汞与氯己定(洗必泰)或氯化烷基三乙醇胺的混合抗菌剂。由于前述的硫

柳汞的缺点,目前已经不常使用这些溶液。Polyquad 和 Dymed 这些较新的抗菌剂由于其分子结构和大分子体积,有较好的抗菌作用。这些抗菌剂从 20 世纪 80 年代后期开始使用,在长期的使用过程中没有出现与原有抗微生物剂类似的反应。这类产品目前在镜片护理市场上占主导。

## 增加软质隐形眼镜佩戴舒适性的产品

### 1. 有助于佩戴舒适的因素

人们已经注意到水凝胶镜片本身就比硬质(RGP 或 PMMA)镜片佩戴更舒适。这与前者优异的柔韧性和亲水性使得足够数量的水分(38%~74%)进到镜片中有关。但是,佩戴一段时间后,一些镜片的水合作用会发生改变。这可能与沉淀、环境变化(温度、湿度)和不恰当的护理有关。特别是伴随着佩戴舒适度和清晰度的降低,“干点”(dry spot)变得明显。当出现这种现象时,佩戴者可定时在佩戴镜片上滴加再润湿剂(或柔顺)溶液得到改善。这些溶液通常是含有高分子或表面活性剂的低黏度水性溶液,能促进表面的润湿、泪液的扩展和增加泪液膜的稳定性。它们也具有缓冲和润滑的作用,可减轻冲击和降低眼睑在角膜表面镜片运动时产生的摩擦力。当镜片上有一定数量的沉积和碎屑时,这种摩擦力可导致对角膜组织的物理刺激。除了湿润、缓冲和润滑作用外,促进污染物的除去和阻止污染的能力也是溶液必须具备的一种性质。就佩戴方便而言,滴加上述溶液的频率也要尽可能小。因此,在有沉积的镜片上使用聚合物和表面活性剂,必须能防止泪液的冲洗,即聚合物和表面活性剂应能牢固存在。

尽管再润湿效率是水凝胶镜片佩戴者的首要需求,但对于 RGP 和 PMMA 镜片佩戴者,三个性质(再润湿性、缓冲性和润滑性)都很重要。从业者应该努力寻求有助于佩戴者找到最适合她或他的特定舒适需求的产品。水凝胶镜片用的溶液通常具有低黏度,而用于硬质镜片的溶液黏度较高。尽管高黏度有助于增强缓冲作用,但黏度太高可能导致视线模糊和阻碍眼睑正常运动。

### 2. 增加镜片舒适性的溶液成分

在增加镜片舒适性的溶液中使用的高分子有聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、葡聚糖和不同的纤维素衍生物,如羟乙基纤维素、羟丙基纤维素和羟丙甲纤维素。表面活性剂包括泊洛沙姆及其乙二胺衍生物(poloxamine)。其他常用的成分包括防腐剂、缓冲剂和表面张力调节剂。

## 硬质透气镜片的护理产品

一些种类的硬质透气镜片(RGP)已经问世(表 2),其他的还在开发中。由于其硬性,与传统的硬质 PMMA 镜片有很多共同性。很多情况下,用于后者的护理产品也适合 RGP。尽管它们不可能有最佳的性质,很多从业者宁

愿用这样的产品，因为其胜于很多原用于软质镜片后被 FDA 批准其用于 RGP 的产品。

大多数用于软质隐形眼镜的产品也适用于硬质透气性隐形眼镜。这些包括日用的清洗、润湿、缓冲液和周用酶清洗剂。消毒溶液对于 RGP 的护理也是必需的，它们经常作为调节溶液。在佩戴中提供一个亲水性的镜面的调节是很重要的。因为 RGP 镜片不耐热，除了溶解酶清洗剂用于每周清洗或漂洗以外，不需要含或不含防腐剂的生理盐水溶液。

由于 RGP 不像软质镜片那样多孔吸水。佩戴者不会有佩戴软质镜片时产生的问题，即防腐剂在镜片高分子骨架中的透过和浓缩，导致毒性或过敏反应。但是某些防腐剂与镜片表面黏结也会产生一些临床问题。这种黏结包括离子和（或）疏水相互作用。

除了像在软质亲水镜片中产生蛋白质的沉积的聚集外，RGP 镜片的分子结构也容易吸附脂质沉积物，如胆甾醇酯、蜡酯和甘油三酯等。这一现象在具有高  $D_k$ （氧透过性）值的疏水材料中尤为突出。最近在材料科学中有关隐形眼镜的研究已经开发出一声称沉积较少的材料，比如氟硅氧烷丙烯酸酯和碳氟化合物。

佩戴硬质镜片远没有佩戴软质镜片舒适。事实上，这是限制 RGP 镜片市场份额增长的主要因素。因此人们清楚地意识到对高效润湿、缓冲和润滑产品的需求。RGP 镜片也需要高效的组合产品来提供便捷性和提高产品的性能。

## 多用途溶液

多功能溶液是为了提高佩戴者的依从性和产品使用的方便性。这种溶液通常不用于传统的 PMMA 硬质镜片和硬质透气镜片。它们结合了镜片护理的两种或更多的基本功能，包括清洗、消毒、浸泡、润湿和润滑作用。在单一产品中综合这些功能可能会损害其某些方面的效能。比如，兼有清洁和消毒的溶液在清洁方面可能不如单独使用清洁剂那样好，但是结合了清洗和消毒的溶液具有一步操作的方便性，对于泪液化学成分不易在镜片表面引起沉积的佩戴者来说特别有用。

软质镜片的多用途溶液最初仅限于清洁和消毒。软质镜片固有的亲水性使佩戴舒适，所以对湿润和润滑的组合需求不是主要的。发现广谱和强力防腐剂后，随着化学品在清洁和消毒能力方面的技术进步，镜片护理更加简单。最近开发一种多用途溶液的新产品，可省略揉搓的步骤。

## 隐形眼镜产品的包装

除了酶片和消毒片，所有的镜片护理产品都包装在塑料容器或密封的金属容器中。这些片剂通常是泡腾片，以塑封铝箔或泡眼包装来延长储存期。制药工业对泡腾片所使用的包装材料足以达到这一目的。塑料容器通常由低密

度或高密度聚乙烯或聚丙烯材料制成。很多容器都是避光不透明的。含钛的多种着色剂用在塑料挤出瓶中，容器壁的组成和厚度应方便输送。另外一个重要的考虑是顶部的喷嘴，它应考虑到内容物流出。例如，消毒溶液或生理盐水需要输送 3~5mL 的较大体积以填充镜片盒，可以采用稳定的液体流，但对湿润、润滑和缓冲滴剂等产品不适合，因为这些产品是直接用于滴眼的。对于这些产品，顶部应设计成能一滴一滴地滴入。顶部的设计由黏度和表面张力等处方特性决定。由于它接触眼睛，顶部设计必须圆滑。瓶子的盖子通常由聚苯乙烯或聚丙烯材料制成。

由于除了片剂外的所有镜片护理产品都需要无菌，容器在灌装前应加以灭菌，除非采用成形、灌装和封口技术工艺。容器通常以环氧乙烷或  $\gamma$  射线灭菌。由于对环氧乙烷残留量和降解产物有较为严格的政府规定，优先采用  $\gamma$  射线灭菌。最近几年对工人在环氧乙烷及其副产物的暴露时间已经严格控制，所以除了以  $\gamma$  射线灭菌的喷雾容器中的非防腐生理盐水溶液外，对镜片护理产品不必进行最终灭菌。

## 隐形眼镜附属产品

隐形眼镜附属产品包括清洁镜片的镜盒和协助佩戴的装置。

### 1. 镜片盒

镜片盒用于消毒和存放非佩戴的镜片。镜片盒可以是单室桶形的，容纳 7~10mL 溶液，或者是具有双室的扁平设计，每格容纳 3~5mL 溶液。镜片生产商也用镜片盒包装干态的 RGP 和 PMMA 镜片作为邮件运送。最近批准了用调节溶液运送镜片。另外，亲水性的软镜片通常密封于无菌的含有缓冲等渗的生理盐水溶液的玻璃安瓿中运输。塑料镜片盒采用高分子材料如聚乙烯、聚丙烯、聚砜或聚碳酸酯制造。

### 2. 协助清洁的装置

镜片清洁装置适用于手指不够灵活而难以清洁镜片的佩戴者。该装置也用于清洁易被手指刮损的镜片。消费者常用的是手工搅动，电动或声波振动的机械搅拌。专业常使用的是超声装置。没有一种装置能清除黏结较强的蛋白。清洁装置的容器中灌装了特制的清洗液，或含有几滴表面活性剂的日用镜片清洗剂的盐溶液。这种装置应方便镜片的放置和取出，并使损坏可能性最小。要求镜片放置篮在清洁后不需处理，冲洗即可。

### 3. 协助镜片佩戴的装置

这种装置通常有助于老年尤其是佩戴无晶状体镜片的患者。这种装置通常有一个带有吸盘的橡胶球状体。若非正确使用或清洁和消毒不当，它们都能造成严重角膜损伤和眼部感染。

## J

## 4. 镜片护理产品未来的方向

在佩戴隐形眼镜（软质和硬质）的人中，有 40% 在最初的 3 年后会停止佩戴。其中一个原因是对镜片护理需要时间和精力。因此，需要开发便于使用、需要较少产品和较少护理时间的镜片护理体系。新产品将使用更安全的防腐剂来减少患者的问题，这些防腐剂即使在错用时也无毒，不会产生过敏。同时将出现更有效的清洁剂，减少蛋白质和微生物吸附于镜片表面的产品，以及在佩戴时滴入用以延缓长时间佩戴的沉积物形成的产品，或用于佩戴时清洁的清洁剂。将来其他类型的产品还包括特殊的人工泪液和用于易得干眼症的老年患者的舒适滴眼剂。人们还需要诊断产品以检测在临床出现症状前的潜在问题。人们期望能用于所有的隐形眼镜（硬质 PMMA、PGP 和软质镜片）的通用产品，当不同的镜片在化学和表面性质上差异很大时，这样的产品是不太可能出现的。未来的重点是在不损害安全性的前提下开发方便易用的产品，能提高佩戴者的依从性和减少停止戴镜者的人数。专门用于抛弃型和经常替换的镜片的护理产品也将出现。

## 镜片护理产品的组成

## 1. 有效成分

在将来使用的产品中有效成分起着重要的作用。镜片护理产品中的有效成分通常限于一个或两个化学品，但如果一个产品是多用途或多适应证，它可能含有几种有效成分。

## 1.1 具有消毒作用的化学品

有效的化学品必须具有杀菌和抑真菌性质，但优先考虑其抑真菌性质。产品评价包括生物体种类的鉴别、接种体水平和测试方法，这些均按 FDA 指南规定。目前的化学体系消毒时间 4~6h，这适合大多数的佩戴习惯，因为 90% 以上的佩戴者摘除镜片过夜。摘除镜片过夜有助于眼睛从佩戴镜片的压力下恢复。目前正在设法缩短消毒时间以使消毒更方便，因此产品需要较现行办法有很大提高的消毒效果。

## 1.2 表面活性剂或其他具有清洁作用的物质

多种表面活性剂传统上用于常规的 PMMA 硬质镜片的清洁。表面活性剂用于清除镜片表面沉积物（如化妆品、发胶和睫毛膏等）是有效的。但它们不能清除紧密黏结的沉积物（蛋白质、脂质、脂蛋白和膜蛋白等），这些沉积物经常出现在软质亲水镜片和硬质透气性镜片上。这种沉积物通常能被含酶的产品、强氧化剂或混悬研磨剂有效清除。所使用的表面活性剂和市售的代表产品在软质镜片清洁产品的部分已做讨论。其他如柠檬酸盐或磷酸盐等少数物质也用作清洁剂。

## 1.3 具有湿润、润滑和缓冲能力的组分

高分子化合物和表面活性剂是两类主要用于湿润、润滑和缓冲作用的化合物。为得到所期望的产品性质，按特定高分子的性质采用不同的组合。

合成的和天然高分子都用于镜片护理产品。这些物质由于增加黏度而具有缓冲作用。对于那些传统的硬质 PMMA 镜片和硬质透气镜片的佩戴者来说，更需要这种产品。因为这些镜片由于其设计和高分子的理化性质，其本身就不如软质隐形镜片那样舒适。增稠物质在镜面先于泪液提供了必需的最初覆盖。除了增加黏度，高分子吸附镜面的能力和引发表面湿润活性也是需要着重考虑的。

表面活性剂吸附于镜面使泪液快速铺展，从而使佩戴更舒适。表面活性剂使镜面具有湿润能力，但这对于亲水性软质镜片作用不大，因为其本身的含水量使得它们具有润湿性。然而表面活性剂有利于延缓沉积物的堆积和清洁作用。接触角作为润湿效果的表示，测定增大或减小隐形眼镜接触角的方法已经规范化。使用测角器测定接触角，不同的高分子有不同的润湿性。然而，由不同高分子制成的隐形眼镜镜片接触角的离体测定临床价值很小。当镜片佩戴后随着几下眨眼，泪液成分铺展在镜片表面，测得的在体接触角没有什么区别。表面活性剂通常与高分子组合而具有直接性和缓冲性质。市售的代表性产品中所用的高分子和表面活性剂将在增加软质隐形眼镜佩戴舒适性部分讨论。另外，由于 PMMA 和硬质透气性镜片的表面疏水性，这种镜片更需要能增加镜片润湿和泪液铺展的表面活性物质。

## 2. 其他辅助成分

## 2.1 防腐剂

几乎有多剂量的隐形眼镜产品都用防腐剂。由于佩戴镜片者误用的可能性很大，防腐剂用于预防潜在的微生物增殖。被污染的产品可能最终导致眼部感染甚至失明。当防腐剂作为一种有效成分组合在隐形眼镜的消毒产品中的，防腐剂必须符合 FDA 对于隐形眼镜护理指导原则中所述的抗菌活性。

FDA 已颁布了关于防腐效果的指导原则，其中包括一个附加的弥补产品可能被误用的安全因素。这些要求比美国药典对于防腐效果的要求更为严格。FDA 要求在第 14 天复测防腐产品，再进行微生物接种，这一点美国药典是不要求的。所使用的防腐剂基本上与在镜片热消毒或化学消毒中所使用的是一样的。其浓度可能不同于镜片化学消毒的防腐剂。由于防腐剂可能与高分子或表面活性剂结合而降低其性能，所以浓度高于在清洁剂和增加舒适感的溶液中所用的防腐剂。

不同国家对隐形眼镜防腐溶液有不同标准。《英国药典》的要求最严格。很多市售的产品都不能符合它的要求。《美国药典》（加以修订以符合 FDA 指导原则）、《英国药

典》和《德国药典》都阐述了在开发产品必须考虑的三个主要的防腐性能检测。根据符合要求的难易,《英国药典》是最严格的,修订的《美国药典》是最不严格的。在检测要求上的主要不同是暴露时间和作为挑战微生物的大肠杆菌的使用。《英国药典》对抗菌活性用的是 6h 的标准,而美国是 14 天的标准。最近通过了一个国际标准,它与美国 FDA 程序相似。

## 2.2 调节 pH 的缓冲液

在镜片护理产品中缓冲液和 pH 调节剂的使用是一个重要的考虑因素。通常可能直接接触眼组织的所有产品都应控制在适合眼部的生理 pH,最适 pH 范围是 6~8。在隐形眼镜镜片护理产品中最常使用的是磷酸盐和硼酸盐。有时也使用乙酸盐、柠檬酸盐等。除了缓冲液,为在产品最终获得合适的 pH,也经常使用氢氧化钠和盐酸。它们也用在不含任何缓冲体系的产品中调节最后的 pH。选择一个合适的缓冲体系应该考虑到最好的产品性能,兼顾其稳定性和与其他组分的相容性所需要的 pH。

尽管希望产品 pH 尽可能接近生理 pH,但为了获得产品较好的稳定性、最优的性能或活性成分和辅助组分有较好的溶解性,产品处方经常超过了生理 pH 范围。超出生理 pH 范围的产品应具有较低的缓冲容量,使其借助泪液存在的碳酸氢盐缓冲体系快速平衡到泪液 pH。为了维持一些镜片参数,对于亲水软质镜片浸润和消毒的产品,尤其是属于 FDA-4 类的产品,使其 pH 接近生理 pH 是很重要的。在参数上的改变不仅有不适感,还会产生视力模糊。

## 2.3 张力调节剂

隐形眼镜产品应尽可能调节接近泪液的表面张力。这对于舒适性很重要。长时间暴露在低渗溶液中可能诱导角膜上皮细胞的水肿,导致视物模糊和不适;长时间处在高渗溶液中可导致角膜上皮细胞萎缩,引起神经末端暴露,产生不适。目前所使用的隐形眼镜溶液中没有一种会产生这种症状,因为它们大多数都是等渗的,而且与角膜的接触都是最小的。然而,接近 280 ( $\pm 50$ ) mosm<sup>①</sup>/kg 等渗值的产品,对于佩戴最舒适度和维持亲水软质镜片(尤其属于 FDA-4 类)的完善性是很重要的。提供等渗作用的化合物包括缓冲剂、氯化钠、氯化钾、丙二醇、甘露醇和葡萄糖等。

## 2.4 增稠剂

增稠剂如合成和天然高分子在提供舒适感和再润湿作用的产品的溶液中作为活性组分,但它们在隐形眼镜清洁产品中用作辅助成分。这些物质增大了清洁剂与污染镜片的接触,促进镜片和手指或在手掌和食指间的摩擦,而获得较好的清洁镜片效果。也有高黏度或凝胶型的清洁剂,但由于难于清除和可能引起眼部刺激,所以不是很普遍。

作为辅助成分使用的高分子与用于提供舒适和湿润作用的溶液中的是同一类型。

## 产品设计中要考虑的制剂技术

除了极少例外,隐形眼镜产品都需要无菌溶液。由于潜在的危及视力的眼部感染,无菌要求是很重要的。美国药典上的无菌检测程序和判断标准必须满足 FDA 关于隐形眼镜产品的许可。在开发制剂产品中使用的技术,如可注射的和大量静脉注射液技术,是可以接受的。由于不直接接触眼睛(如眼睛内部的细胞和液体),在某种程度上隐形眼镜产品的要求没有那么严格。包装在单剂量容器或多剂量加压喷雾容器中的产品不必防腐,但是非喷雾容器的多剂量产品应防腐并且通过 FDA 防腐性能检查。试图开发镜片护理产品的生产商应该向 FDA 咨询最新的指导原则。

除了溶液,隐形眼镜产品还有其他不经常使用的剂型,这包括凝胶和混悬型清洁剂以及酶清洁剂或消毒剂的粉末和片剂。这些产品除了粉末和片剂都是无菌制品,必须符合 USP 关于生物负载的要求,并要求在其他微生物中不出现葡萄球菌和假单胞菌落。由于可引起敏感的眼组织的刺激性,所以对处方中组分的选择比起那些用于全身或局部的药品更为严格。

化学组分必须无刺激性,以及与眼组织和镜片相容。对片剂组分,比如黏合剂和润滑剂,更为严格,因为这些组分必须可溶在生理盐水溶液中而且能形成透明溶液。通常适用于眼用产品的处方组分可能不适用于隐形眼镜产品,因为很多隐形眼镜材料可能将隐形眼镜产品中的组分浓缩几百倍。佩戴时,这些物质可能以对角膜有毒的浓度释放,会导致轻微或严重的眼部反应。镜片的状况可以使这些组分的结合或释放更为复杂化。例如,隐形眼镜产品中经常使用的硫柳汞和洗必泰,在没有沉积的新镜片和表面有蛋白质沉淀的使用过的镜片上的浓缩是不同的。为尽可能减少眼部刺激,需要一些类似的研究来阐明这些问题。某些组分(如硫柳汞)最初使用时耐受性是很好的,但长时间后一些佩戴者由于对硫柳汞产品产生了过敏而不耐受。这种不耐受现象是很难预知的,目前没有令人满意的方法可预测这种延时的免疫调节的过敏反应。常用的豚鼠最高剂量检测不能预测这种延时的过敏反应。

如前所述,期望产品处方接近生理 pH。但是为了产品性能最优化或满足法规要求,有时处方需要超出生理 pH 范围。山梨酸,一种在隐形眼镜产品中经常使用的防腐剂,pK<sub>a</sub> 值为 4.8,是有效的边缘抗菌剂。如果市售产品中的山梨酸浓度通常为 0.1,处方调节为生理 pH 在 7.0~7.4,那么这种产品不能通过 FDA 防腐能力的检测。为在不影响眼部舒适感的前提下最大限度提高抗菌活性,将产品处方调节到 pH 为 6.5~6.8 是必要的。由于很多防腐剂的抗菌活

① mosm 为渗透压单位。

性取决于非解离的部分, 因此, 考虑防腐剂的解离常数很重要, 在生理 pH 时, 非解离部分的量要合适, 且不引起眼部刺激。

产品设计时还应考虑镜片高分子和其表面电荷性质。例如, FDA-4 类镜片, 表面带有负电荷, 能与带正电荷的组分反应, 导致严重的眼部毒性反应。可通过加入非离子表面活性剂与阳离子形成胶束来避免这种毒性反应, 进而减少表面的相互作用和毒性。如果产品中的阳离子物质是主要的消毒剂, 那么这种减少表面相互作用和毒性的方法常常会降低抗菌性能。所以, 既要减小表面反应, 还要符合消毒和防腐的要求很重要。

在隐形眼镜产品设计时也要考虑到防腐剂的亲水-亲油平衡值 (HLB) 和分子大小。比如, 氯丁醇 (一种用于眼科产品中的非离子防腐剂), 由于其分子的亲脂性而能渗透到硬质透气镜片材料的骨架中。存在于镜片骨架中的防腐剂可能改变镜片参数或在佩戴时逐渐释放, 导致对角膜细胞的刺激性和毒性。另外, 防腐剂的分子大小对于亲水软质镜片产品的设计是很重要的。通常, 高相对分子质量和合适分子结构的防腐剂不易透过水凝胶镜片的多孔骨架。目前有的产品含有相对分子质量超过 1000 的防腐剂 (如 Dymed 和 Polyquad)。

### 参 考 书 目

- Bailey, N. J. *Contact Lens Spectrum* 1987, 2 (7), 6-31.
- Bennett, E. S.; Grohe, R. M. *Rigid Gas-Permeable Contact Lenses*; Professional Press Books/Fairchild Publications: New York, 1986.
- British Pharmacopoeia 1988; [Appendix SVIC (Efficacy of Antimicrobial Preservatives in Pharmaceutical Products)] Her Majesty's Stationery Office: London, 1988; 2, A200-A203.
- Chowhan, M.; Bilbault, T.; Quintana, R. P.; Rosenthal, R. A. *Contactologia* 1993, 15, 190-195.
- CLMA Standards Subcommittee, Technical Affairs Committee (Q. A. Cappelli, chair). *Industry Accepted Reference Procedure for Determining Wetting Angle* 1979, 4 (4), 35-39, *Contact Lens Manufacturers Association (CLMA)*, Chicago [cf. *Contact Lens Forum*].
- Dabezic, O. H., Jr. Ed. *Contact Lenses: The CLAO Guide to Basic Science and Clinical Practice*; Little, Brown and Company: Boston, 1989; 1 and 2.
- Deutsches Arzneibuch; [Anhang VIII. N1 (Prüfung auf ausreichende Konservierung)] 9. Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag; Stuttgart, 1986; 369-370.
- Food and Drug Administration, Draft Testing Guidelines for Class III Soft (Hydrophilic) Contact Lens Solutions United States Food and Drug Administration, Silver Spring, MD, 1985.
- Food and Drug Administration, Guidance Document for Class III Contact Lenses United States Food and Drug Administration, Silver Spring, MD, 1989.
- Gossel, T. A.; Wuest, J. R. *Contact Lenses and Lens Care Products*. In *Handbook of Nonprescription Drugs*; Feldmann, E. G., Ed.; American Pharmaceutical Association: Washington, 1990, 601-631.
- Harris, J. K. *Solutions for Cleaning, Disinfection, and Storage*. In *Contact Lenses*; Aquavella, J. V., Rao, G. N., Eds.; J. B. Lippincott Company: Philadelphia, 1987; 226-263.
- Hartstein, J., Ed. *Extended Wear Lenses for Aphakia and Myopia*; The C. V. Mosby Company: St. Louis, 1982.
- Hartstein, J.; Swanson, K. V.; Harris, C. R. *Contemporary Contact Lens Practice*; Mosby-Year Book, Inc.: St. Louis, 1991.
- Holly, F. J., Ed. *The Preocular Tear Film in Health, Disease, and Contact Lens Wear*; Dry Eye Institute, Inc.: Lubbock Texas, 1986.
- Houlsby, R. D.; Ghajar, M.; Chavez, G. J. *Am. Optom. Assoc.* 1988, 59, 184-188.
- Kreiner, C. F. *Kontaktlinsen-Chemie*; Median-Verlag: Heidelberg, 1980.
- Lippman, J. I. *CLAO J.* 1990, 16, 287-291.
- Lowther, G. E. *Preparations Used with Contact Lenses*. In *Clinical Ocular Pharmacology*; Bartlett, J. D., Jaanus, S. D., Eds.; Butterworth's: Boston, 1989; 337-353.
- MacKeen, D. L. *Am. Pharm.* 1986, NS26 (10), 27-31.
- Mandell, R. *Contact Lens Practice*; Charles C. Thomas: Springfield, IL, 1981.
- Philips, A. J., Stone, J., Eds. *Contact Lenses: A Textbook for Practitioner and Student*; Butterworth's: Boston, 1989.
- Randeri, K. J.; Quintana, R. P.; Chowhan, M. A. *Contact Lenses Cleaning*. In *Contact Lenses: The CLAO Guide to Basic Science and Clinical Practice*; Kastl, P. R., Ed.; Kendall/Hunt Publishing Company: 1995; 215-236.
- Ruben, M. *Color Atlas of Contact Lenses & Prosthetics*; The C. V. Mosby Company: St. Louis, 1989.
- Tripathi, R. C.; Tripathi, B. J.; Silverman, R. A.; Rao, G. N. *Int. Ophthalmol. Clin.* 1991, 31, 91-120.
- The United States Pharmacopoeia, 24, NF19; United States Pharmacopoeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1809-1823.
- US Patent, 5, 370, 744, Alcon Laboratories, Inc.
- White, P.; Scott, C. *Contact Lenses & Solutions Summary*. In *Supplement to Contact Lens Spectrum*; Viscom Publications, Inc.: Norwalk, CT, Feb. 1991.
- Yeager, M. D.; Benjamin, W. J. *Int. Contact Lens Clin.* 1987, 14 (8), 61.

(张春娜 译)

## 均质和均质机

Venkatesh Naini

Barr Laboratories, Inc., Pomona, New York, U. S. A.

Shailesh K. Singh

Wyeth-Ayerst Research, Peral River, New York, U. S. A.

## 引言

均质化包括将一种液体乳化分散于另一种介质、均匀地分散固体颗粒和破碎细胞膜。传统上均质机一直应用于制药工业的乳化工艺,而目前其在生产脂质体<sup>[1]</sup>、纳米混悬剂<sup>[2]</sup>、固体脂质纳米粒<sup>[3]</sup>、片剂包衣分散剂<sup>[4]</sup>、微囊<sup>[5]</sup>和在细胞培养中破碎细胞获取治疗性蛋白<sup>[6]</sup>等方面的应用也日益增多。

尽管存在多种复杂体系,药用乳剂通常分为 o/w 和 w/o 体系,其中第一成分代表分散相。乳化生产的第一步是应用机械能(均质化)破坏分散相形成稳定的乳剂。均质机也可用于减小药用混悬剂的粒径。影响药用乳剂和分散体形成的重要因素是机械和(或)相关的处方组成。均质化过程中引起液滴或微粒粒径减小的机械作用包括剪切力、湍流、碰撞和空穴化<sup>[7]</sup>。剪切力是由于液体加速,通过拉伸而引起液滴粉碎产生的。空穴化的形成是因为压力剧烈下降,导致液体中形成气泡,气泡内爆引起液体的冲击波。这些会引起液滴、微粒和细胞膜的破坏。不同生产商的均质机都是采用这些作用力的综合作用来运作的<sup>[8]</sup>。

本章集中讨论在制药工业中常用的均质机,即高压均质机、转子-定子式匀浆器、高压微射流分散仪和超声均质机。

## 高压均质机

Auguste Gaulin 在 1900 年首次将高压均质机应用于均质牛奶<sup>[9]</sup>。基本的高压均质机由正排量泵连接在均质阀上构成(图 1)。泵在高压下将液体压入阀中,当物料被迫通过可调节的缝隙(D)时,其速度随瞬间失压急剧变大。喷出的物料碰撞到碰撞环(C)上,能量的骤然变化引起了湍流、剪切和(或)空穴化,导致液滴粒径降低和微粒分散的均一化。高压均质机已应用于乳化<sup>[10~12]</sup>,微粒和纳米分散体的制备<sup>[13~16]</sup>,脂质体<sup>[1,17,18]</sup>和细胞破碎<sup>[6,19]</sup>。图 2 是一种实验室规模的高压均质机。乳剂生产可以采用单级或二级阀设备,其中总压力的 10% 应用于第二级。为了获得非常窄的粒径分布,还有另外一种常用方法是多次循环均质机,通过采用均质机串联或者同台均质机多次单独循环实现。

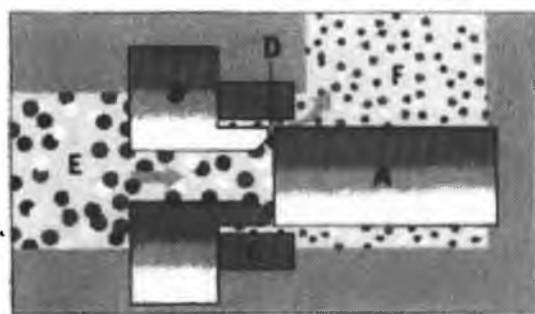


图 1 高压均质机中的均质阀 (APV Homogenizer Group 授权)

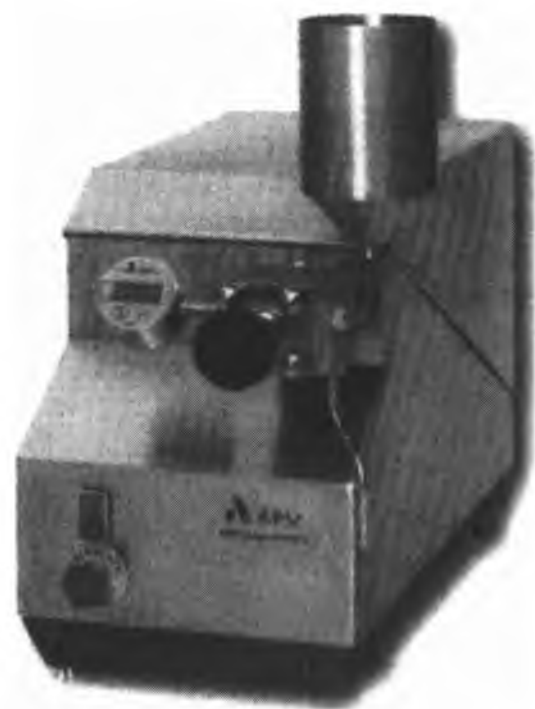


图 2 实验室规模的 Gaulin 型高压均质机图  
(APV Homogenizer Group 授权)

多个因素影响采用高压均质机制备乳剂产品,主要有表面活性剂的种类和用量<sup>[11,12]</sup>、油相用量、均质过程的参数(如压力、循环次数或不连续通过均质机的次数)。Pandolfe 研究了这些参数中的几个,发现预先混合状态(均质前)、乳化剂浓度、均质机产生的能量都显著影响乳剂的质量<sup>[11]</sup>。提高均质压力对于不同浓度的油相、差预先混合



(涡轮搅拌 1000r/min) 和好预先混合 (在 500psi 下预匀质) 样品的影响如图 3 所示。尽管观察到所有液滴粒径都减小, 但是采用最少量的油相、最高均质压力和适当较好的预先混合条件下效果最好。同时可见提高均质压力可以显著减

少处方需要的乳化剂用量, 因为能有效地减小液滴粒径。高压均质机可以用来制备静脉脂肪乳<sup>[10]</sup>。静脉脂肪乳中要求粒径大于  $1\mu\text{m}$  的液滴或微粒的个数有限, 且没有粒径大于  $5\mu\text{m}$  的粒子存在。

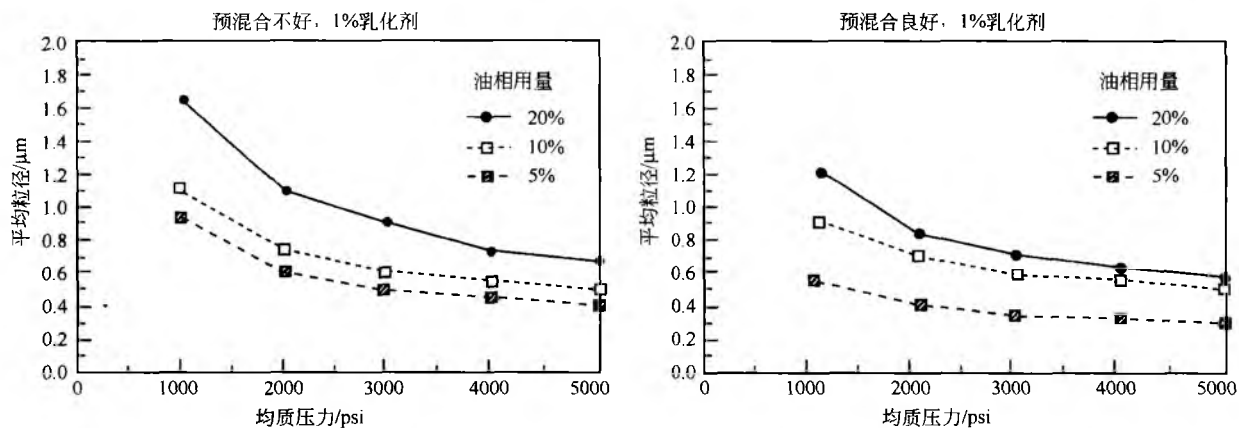


图 3 平均粒径与均质压力的关系<sup>[11]</sup>。乳剂中含 1% 乳化剂和 5%、10%、20% 油相

Calvor 和 Muller<sup>[13]</sup> 采用高压均质机和新方法制备了可生物降解的聚乳酸 (PLA) 和聚 D, L-乳酸-羟基乙醇酸 (PLGA) 微粒, 他们将含药聚合物混悬液加热至高于其玻璃化转变温度 ( $T_g$ ), 然后使用高压均质机。高于聚合物玻璃态温度时, 分散相黏度降低, 使高压均质机有效地降低粒径。图 4 表示均质温度对 PLGA 系统 ( $T_g \approx 40^\circ\text{C}$ ) 的粒径减小的影响。Gaulin 型高压均质机通常可用于均匀分散和粉碎微粒团块。实际上粉碎混悬剂中的微粒曾被认为是不可可能的。然而最近, 已能成功地采用高压均质机将微米级物料制成难溶性药物的纳米混悬剂<sup>[14]</sup>。影响均质机减

小药物粒径的因素包括均质机缝隙的宽度、物料微粒的形状和粒径、药物结晶的脆碎度。纳米混悬剂在难溶性药物的注射制剂、重新配方原来含有毒有害辅料的注射溶液剂方面有广阔的应用前景, 也可用于提高药物的饱和溶解度、在胃肠道的黏附特性、口服后的生物利用度<sup>[2]</sup>。由于混悬药物粒子与接触表面发生摩擦, 高压均质化过程中重金属的污染是一个需要关注的主要方面。Krause 等发现采用高压均质技术, 1500 bar 下 50 次循环后, 纳米混悬剂的重金属污染最小 ( $<1\text{ ppm}$ )<sup>[20]</sup>。

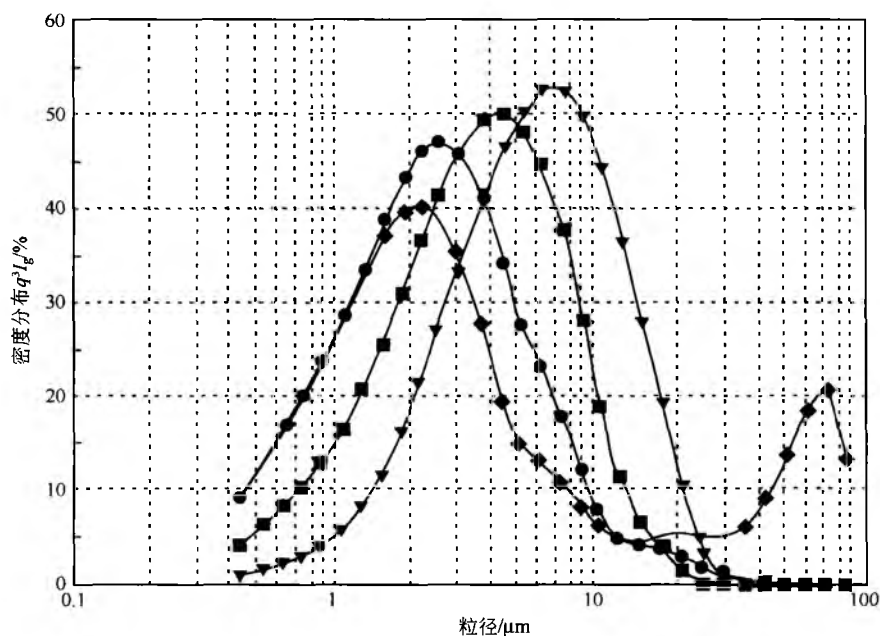


图 4 PLGA 微粒在均质温度  $75^\circ\text{C}$  ( $\nabla$ )、 $78^\circ\text{C}$  ( $\blacksquare$ )、 $79^\circ\text{C}$  ( $\blacklozenge$ ) 和  $80^\circ\text{C}$  ( $\bullet$ ) 时的体积大小分布<sup>[13]</sup>





脂质体是一种具有水性腔室、外包裹着双层膜的磷脂囊泡<sup>[1]</sup>。脂质体在小分子药物给药载体、控释、蛋白质和多肽靶向治疗、疫苗的免疫辅助剂<sup>[17]</sup>中的应用日益增多。脂质体需要大量生产，而均质机适合在无菌条件下进行工业生产。均质化过程中的剪切和空穴化作用通常形成小单室囊泡（SUV）。均质化的次数和压力会影响囊泡粒径<sup>[17,18]</sup>。采用一定比例的脂质和水、提高均质化的压力会产生更小和分布更窄（降低多分散性）的囊泡，若进一步增加循环

次数会因为聚结而导致较宽的粒径分布<sup>[17]</sup>。Bachmann 等用持续运作的高压均质机一步方法大量生产脂质体，采用脂质粉末和药物水溶液制备了 SUV<sup>[18]</sup>。囊泡的包封率和包封体积如表 1 所示。采用由大豆卵磷脂（SPC）提取的磷脂酰胆碱制备脂质体，在 40 MPa 或 70 MPa 下均质，压力越大，产生的囊泡粒径越小，但是通过均质机几个循环后，循环次数影响不再明显。另外，包封率随压力和循环次数增加而降低（表 1）。

表 1 高压均质机制备的囊泡的包封率和包封体积<sup>[18]</sup>

循环次数	40 MPa		70 MPa	
	包封率/%	内包封体积/(l/mol)	包封率/%	内包封体积/(l/mol)
1	11.8	0.91	11.6	0.89
5	10.4	0.80	9.0	0.69
10	8.0	0.62	7.5	0.58
20	7.6	0.58	6.1	0.47

随着生物技术发展，人们已经自哺乳动物和细菌细胞培养中获得了几种新的蛋白质药物，高压均质技术广泛用于由培养细胞中获得有意义的蛋白和酶<sup>[6,19]</sup>。Lander 等研究了高压均质机引起细胞破裂的机制<sup>[19]</sup>，发现剪切力和空穴化作用在破裂细胞膜使内容物释放方面具有重要作用。为了有效地破裂细胞壁，用于破碎细胞的高压均质机采用了特殊的阀装置<sup>[6]</sup>。在细胞破裂过程还要考虑的参数是细胞悬液的黏度、流速、通过均质机的次数。

高压微射流纳米分散仪

高压微射流纳米分散仪是另外一种不同工作机理的高

压均质机。预均质液体在高压泵压力下通过一个反应室。反应室为瓷微通道，将加料液体分成两路，两路液体在高速下合并，产生剪切力、碰撞、空穴化，引起微乳和混悬剂液滴粒径减小。US 专利 4533254<sup>[21]</sup>完整描述了微流体化仪器的操作。图 5 显示了高压微射流纳米分散仪的示意图。这些均质机可从 Microfluidics 公司购买。高压微射流纳米分散仪可以制备乳剂<sup>[21~23]</sup>、人工血浆<sup>[24,25]</sup>、混悬液<sup>[26]</sup>和脂质体<sup>[27~30]</sup>。图 6 显示了一种可以在 40 000psi 压力下运作的高压微射流纳米分散仪。

由于可以有效地减小粒径和易于大规模生产，高压微射流纳米分散仪经常用于静脉营养乳剂的制备<sup>[22,23]</sup>。液滴粒径直接与操作压力、通过高压微射流纳米分散仪的循环次

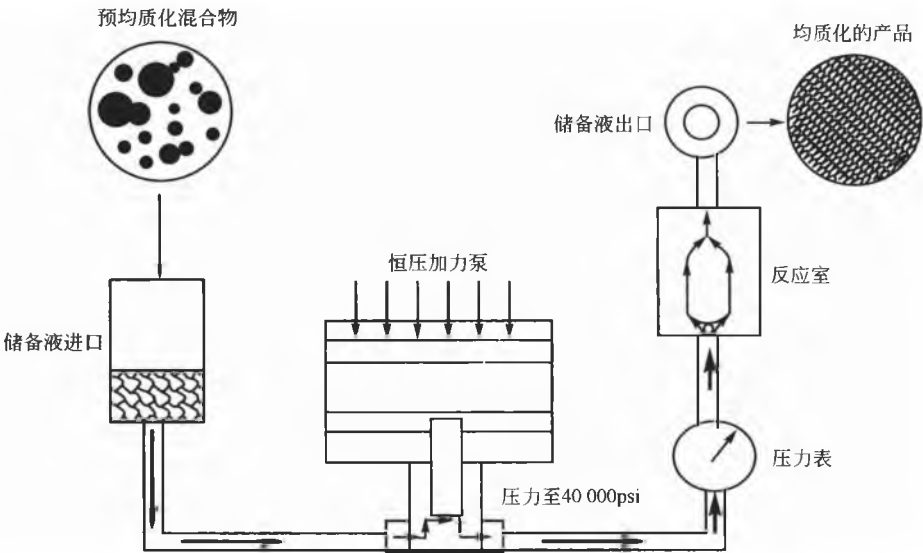
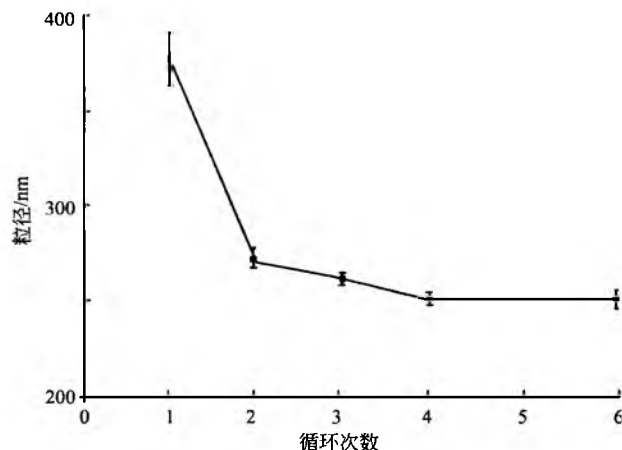


图 5 高压微射流纳米分散仪工作流程（Microfluidics 公司）



图6 M-140K 高压微射流纳米分散仪 (Microfluidics 公司)

数、乳化剂和油相的浓度相关<sup>[22]</sup>。图7显示了循环次数对于浓度为10%的乳剂的粒径减小的影响<sup>[22]</sup>。高压均质机在其最大操作压力10 000psi下,单次通过的粒径为380 nm,四次循环后粒径下降至250 nm,进一步处理无显著影响。Lidgate等采用高压微射流纳米分散仪制备了用作疫苗佐剂的o/w静脉乳,并与采用其他方法制备的样品进行了稳定性比较<sup>[23]</sup>。引起分层的负荷实验可用于测定不同方法制备的乳剂,高压微射流纳米分散仪比均质机混合器制备的静脉乳剂好,乳剂稳定性随着通过高压微射流纳米分散仪循环的次数的增加而提高<sup>[23]</sup>。

图7 10%油相的乳剂在10 000psi下微滴粒径与通过高压微射流纳米分散仪次数的关系<sup>[22]</sup>

与传统用碾磨机相比,高压微射流纳米分散仪在药用混悬剂粒径减小方面具有其独特的优点。利用高压微射流纳米分散仪制备造影混悬液没有重金属污染,且易于大规模生产<sup>[25]</sup>。也有许多利用高压微射流纳米分散仪规模化

生产脂质体的报道<sup>[28~30]</sup>。高浓度脂质(400 μmol/mL)、窄粒径分布的脂质体可采用高压微射流纳米分散仪制备<sup>[26]</sup>。另外,美国专利(4776991)描述了包裹血红蛋白作为血浆代用品的脂质体的规模化生产<sup>[30]</sup>。采用高压均质机生产脂质体通常会产生SUV,其主要的缺点是低包封率和比多层囊泡(MLV)容易泄漏内容物。Sorgi和Huang采用高压微射流纳米分散仪制备了阳离子脂质体,活性成分没有被包封,而是与脂质体通过电荷相互作用形成了复合物<sup>[29]</sup>。高压微射流纳米分散仪适于制备和大规模生产成功应用于基因治疗临床试验的质粒DNA的阳离子脂质体<sup>[29]</sup>。

## 转子-定子高压均质机

转子-定子高压均质机是制药工业常用的设备之一。尽管在获得细微液滴和微粒方面能力有限,与高压均质机和高压微射流纳米分散仪相比,转子-定子高压均质机可以处理黏度更大的液体。转子-定子高压均质机包括与定子有相同耐受力的转子,定子限制由转子运动引起的液体的流动。剪切力和碰撞将转子和定子间的液滴和微粒研细<sup>[5,31]</sup>。胶体磨是转子-定子高压均质机的很好的例子,其转动的圆台(转子)和轴(定子)间的缝隙可调节。然而,胶体磨具有产热和产品有气体的缺点。具有不同几何形状和结构的混合头的转子-定子可以从不同的生产商获得<sup>[8]</sup>。它们可以批模式、连续、在线模式使用。图8显示了一种在线模式的转子/定子均质机。影响转子/定子均质机最终产品的参数包括均质强度、物料在剪切区域停滞的时间、分散相和连续相的黏度、表面活性剂的浓度、定子/转子的设计、混合物的体积和两相间的比例<sup>[5,31]</sup>。



图8 在线转子/定子均质机 (IKA 公司)

Djakovic等研究了采用转子-定子高压均质机制备乳剂时,均质时间、乳化剂浓度、均质强度几个参数的最优选择<sup>[32]</sup>,以平均液滴粒径和多分散性作为衡量最终产品质量的指标,发现均质强度(r/min)和混合时间一定时,液滴粒径和多分散性随着乳化剂浓度增大在达到最优水平前降低<sup>[32]</sup>。Maa和Hsu<sup>[5]</sup>比较了批模式和一次流过的转子/定子均质机用于微包裹技术,利用一次流过方法获得的乳剂



液滴粒径总比批模式的大。因为乳化效果受液体在剪切区域的停留时间的影响，一次流过方法产生的剪切力比批模式小。然而，一次流过模式仪器可采用有效再循环来克服这个问题<sup>[31]</sup>。

超声波均质机

声裂法乳化主要通过空穴化效应实现。超声均质机包括发生器、转换器和扬声器末端<sup>[8,31]</sup>。转换器为压电石英结晶，可以把电能转换成高强度的振动，将振动传至浸在水里的扬声器末端，微滴粒径减小主要是由扬声器末端产生的强烈的冲击波引起的。规模化应用时，超声波均质机可以采用一个流动池实现连续模式<sup>[33]</sup>。总体来说，超声波均质机使微滴粒径减小受到声裂强度、混合物黏度、乳化剂浓度和声裂持续时间的影响<sup>[31,34]</sup>。图 9 显示了提高超声强度对液-液乳化中乳剂微滴粒径大小的影响<sup>[31]</sup>，较高的声裂强度产生较小的乳剂微滴，在所有强度水平下，微滴粒径开始明显减小，接着出现趋近平台相。如果能量足够，超声法的效果不逊于转子/定子均质机。然而，随着液体黏度的增加，转子-定子均质机由于剪切力更有效<sup>[31]</sup>。

设备选择

目前已经出现了能进行一系列处理的各种类型的均质机。进行处方研究时需侧重考虑的是可行性、可操作性、结果可重现性和仪器的生产规模。由部分生产商提供的高

压均质机样品如表 2 所示，自实验室规模到处理大量物料的生产型的众多高压均质机和高压微射流纳米分散仪都可获得。这些均质机与转子-定子均质机相比，处理高黏度的液体具有局限性，转子-定子设计可以处理黏稠的糊剂和乳膏剂，而高压均质机和高压微射流纳米分散仪能更有效地减小粒径，超声波均质机可以通过连续或者一次流过方法处理大体积样品，但是处理高黏度液体时要形成空穴化，且减小微滴需要更高的强度。如表 2 所示，高压均质机和高压微射流分散仪能很简单地应用于批或持续处理样品。转子-定子均质机可通过连续使用或再循环样品实现批次处理或在线分散。

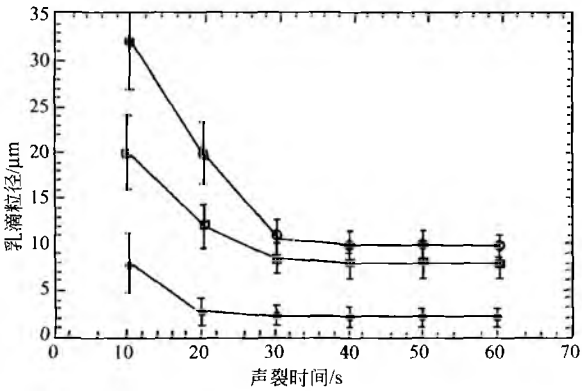


图 9 声裂时间对乳剂微滴粒径的影响。0.4g/mL 甲基丙烯酸酯/二氯甲烷，采用 6%PVA 溶液，体积比 15 : 2，超声能量分别为 20% (○)、50% (□) 和 100% (●)<sup>[31]</sup>

表 2 不同生产商的均质机设备

均质机类型	型号(生产商)	操作模式批/连续	操作参数	能力	应用
高压	APV Model2000(APV 均质机)	实验室规模;批或连续	最大压力:30 000psi	批(100mL)连续(11L/h)	乳剂, 纳米混悬液, 脂质体, 软膏剂, 细胞破碎, 疫苗, 静脉脂肪乳
	Gaulin and RannieModels (APV 均质机)	生产规模;批或连续	最大压力:21 750psi	可达 50 000L/h	
	Ariete Model NS8315 (Niro Soavi)	生产规模;批或连续	压力范围:2000~15 000psi	8000~50 000L/h	
高压微射流分散仪	M-110Y(Microfluidics)	实验室规模,批或连续	压力范围:3000~23 000psi	批>60mL 连续(250~600mL/min)	分散剂, 乳剂, 细胞破碎, 包裹, 脂质体, 疫苗, 静脉脂肪乳
	M-140K(Microfluidics)	实验室规模,批或连续	压力范围:8000~40 000psi	批(1000 ML)连续(500mL/min)	
	M-210EH (Microfluidics)	生产规模,批或连续	压力范围:2500~30 000psi	批(3.8L)连续(5.7L/min)	
转子/定子	Silverson Model GX25	生产规模,批	最大:3600r/min	2400L(低黏度)400L(高黏度)	乳剂分散, 糊剂, 乳膏剂, 洗剂
	Ultra-Turrax UTL(IKA works, Inc.)	生产规模,连续	最大:6000r/min	3500L/h	
超声波	Microson XL2007 (Misonix, Inc.)	实验室规模,批	能量:100 W 频率:22.5 kHz	<50mL	乳剂, 分散剂, 细胞破碎
	Flocell 800D(Misonix, Inc.)	生产规模,连续	能量:475 W; 频率:20 kHz	具有放大扬声器 40L/min	

## 参考文献

1. Brandl, M. M.; Bachmann, D.; Drechsler, M. Liposome Preparation Using High-Pressure Homogenizers. *Liposome Technology*, 2nd Ed.; Gregoriadis, G., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 1993; 1, 49—65.
2. Muller, R. H.; Peters, K. Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs I. Preparation by a Size Reduction Technique. *Int. J. Pharm.* 1998, 160, 229—237.
3. Muller, R. H.; Mehnert, W.; Lucks, J.-S.; Schwarz, C.; Muhlen, A.; Weyhers, H.; Freitas, C.; Ruhl, D. Solid Lipid Nanoparticles (SLN)—An Alternative Colloidal Carrier System for Controlled Drug Delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1995, 41 (1), 62—69.
4. Bodmeier, R.; Chen, H. Hydrolysis of Cellulose Acetate Butyrate Pseudolatexes Prepared by a Solvent Evaporation—Microfluidization Method. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (5), 521—530.
5. Maa, Y.-H.; Hsu, C. C. Liquid-Liquid Emulsification by Rotor/Stator Homogenization. *J. Control. Release* 1996, 38, 219—228.
6. Pandolfe, W. D. Cell Disruption by Homogenization; APV Homogenizers; Wilmington, MA, 1996; 1—20.
7. Walstra, P. Formation of Emulsions. *Encyclopedia of Emulsion Technology: Basic Theory*; Becher, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1979; 1, 58—128.
8. Scott, R. R. A Practical Guide to Equipment Selection and Operating Techniques. *Pharmaceutical Disperse Systems*; Lieberman, H. A., Rieger, M. M., Banker, G. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 2, 1—71.
9. Ed. Processing of Emulsions and Dispersions by Homogenization; APV Homogenizers; Wilmington, MA, 1996; 1—23.
10. Bock, T. K.; Lucks, J.-S.; Kleinbudde, P.; Muller, R. H.; Muller, B. W. High Pressure Homogenization of Parenteral Fat Emulsions—Influence of Process Parameters on Emulsion Quality. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1994, 40 (3), 157—160.
11. Pandolfe, W. D. Effect of Premix Condition, Surfactant Concentration, and Oil Level on the Formation of Oil-in-Water Emulsions by Homogenization. *J. Dispersion Sci. Tech.* 1995, 16 (7), 633—650.
12. Daniels, R.; Schulz, M. B. Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) As Emulsifier for Submicron Emulsions; Influence of Molecular Weight and Substitution Type on Droplet Size After High-Pressure Homogenization. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 49, 231—236.
13. Calvor, A.; Muller, B. W. Production of Microparticles by High-Pressure Homogenization. *Pharm. Dev. Tech.* 1998, 3 (3), 297—305.
14. Grau, M. J.; Kayser, O.; Muller, R. H. Nanosuspensions of Poorly Soluble Drugs—Reproducibility of Small Scale Production. *Int. J. Pharm.* 2000, 196, 155—157.
15. Liedtke, S.; Wissing, S.; Muller, R. H.; Mader, K. Influence of High Pressure Homogenization Equipment on Nanodispersions Characteristics. *Int. J. Pharm.* 2000, 196, 183—185.
16. Lamprecht, A.; Ubrich, N.; Perez, M. H.; Lehr, C.-M.; Hoffman, M.; Maincent, P. Influences of Process Parameters on Nanoparticle Preparation Performed by a Double Emulsion Pressure Homogenization Technique. *Int. J. Pharm.* 2000, 196, 177—182.
17. Brandl, M.; Bachmann, D.; Drechsler, M.; Bauer, K. H. Preparation by a New High Pressure Homogenizer Gaulin Micron Lab 40. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16 (14),
18. Bachmann, D.; Brandl, M.; Gregoriadis, G. Preparation of Liposomes Using a Mini-Lab 8. 30 H High-Pressure Homogenizer. *Int. J. Pharm.* 1993, 91, 69—74.
19. Lander, R.; Manger, W.; Scouloudis, M.; Ku, A.; Davis, C.; Lee, A. Gaulin Homogenization: A Mechanistic Study. *Biotechnol. Prog.* 2000, 16, 80—85.
20. Krause, K. P.; Kayser, O.; Mader, K.; Gust, R.; Muller, R. H. Heavy Metal Contamination of Nanosuspensions Produced by High-Pressure Homogenization. *Int. J. Pharm.* 2000, 196, 169—172.
21. Cook, E. J.; Lagace, A. P. Apparatus for Forming Emulsions. US Patent 4, 533, 254, Aug 6, 1985.
22. Washington, C.; Davis, S. S. The Production of Parenteral Feeding Emulsions by Microfluidizer. *Int. J. Pharm.* 1988, 44, 169—176.
23. Lidgate, D. M.; Fu, R. C.; Fleitman, J. S. Using a Microfluidizer to Manufacture Parenteral Emulsions. *Biopharm.* 1989, 10, 28—33.
24. Zheng, S.; Zheng, Y.; Beissinger, R. L.; Wasan, R. T.; McCormick, D. L. Hemoglobin Multiple Emulsion as an Oxygen Delivery System. *Biochim. Biophys. Acta.* 1993, 1158, 65—74.
25. Zheng, S.; Beissinger, R. L.; Wasan, D. T.; Sehgal, L. R.; Rosen, A. L. Oxygen Carrying Multiple Emulsions. US Patent 5, 438, 041, Aug 1 1995.
26. Illig, K. J.; Mueller, R. L.; Ostrander, K. D.; Swanson, J. R. Use of Microfluidizer for Preparation of Pharmaceutical Suspensions. *Pharm. Tech.* 1996, 10, 78—88.
27. Talsma, H.; Ozer, A. Y.; van Bloois, L.; Crommelin, D. J. A. The Size Reduction of Liposomes with a High Pressure Homogenizer (Microfluidizer®). Characterization of Prepared Dispersions and Comparison with Con-

- ventional Methods. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989, 15 (2), 197—202.
28. Vemuri, S.; Yu, C.; Wangsatorntanakun, V.; Roosdorp, N. Large-Scale Production of Liposomes Using a Microfluidizer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16 (15), 2243—2256.
29. Sorgi, F. L.; Huang, L. Large Scale Production of DC-Chol Cationic Liposomes by Microfluidization. *Int. J. Pharm.* 1996, 144, 131—139.
30. Farmer, M. C.; Beissinger, R. L. Scaled-up Production of Liposome-Encapsulated Hemoglobin. US Patent 4, 776, 991, Oct 11, 1988
31. Maa, Y. -H.; Hsu, C. C. Performance of Sonication and Microfluidization for Liquid-Liquid Emulsification. *Pharm. Dev. Tech.* 1999, 4 (2), 233—240.
32. Djakovic, L. M.; Dokic, P. P.; Sefer, I. B. Mathematical and Experimental Essentials of the Emulsification Process; Optimal Parameters Determination. *J. Disp. Sci. Tech.* 1989, 10 (1), 59—76.
33. Continuous Ultrasonic Processing Cell; Misonix Corporation; Farmingdale, NY, 1998.
34. Higgins, D. M.; Skauen, D. M. Influence of Power on Quality of Emulsions Prepared by Ultrasound. *J. Pharm. Sci.* 1972, 61 (10), 1567—1570.

(陈卫译)

## K

## 颗粒的粒径分析

Brian H. Kaye

Laurentian University, Sudbury, Ontario, Canada

## 取样规程

粉末取样的问题已经在大量的参考书籍中讲述过了, 一些公司销售安装于工业系统的取样设备<sup>[1~7]</sup>。甚至当从实验室得到的是有代表性的样品时, 分析员仍然面临着从提供的粉末中再次取样的困难。已经证明一种最有效的粉末二次取样的装置为旋转取粉器 (spinning riffler), 如图 1 (a) 所示, 它有一个环状的容器可以在粉末下方旋转。所

有的粉末均用该装置处理。有人证明为了获得一个有代表性的样品, 环状容器的旋转时间除以粉末流经仪器的时间除以应该是一个很大的数<sup>[4,7]</sup>。非常细的粉末采用该装置时就会有困难, 由于系统旋转引起的空气流会将细的颗粒吹走。再者, 如果粉末是黏着 (黏性的) 状态, 流过漏斗的粉末会堵住。在一些情况下, 粉末的流动性质可以通过加入硅助流剂而加以改善, 只要不会影响取样后的粒径测定过程<sup>[8]</sup>。

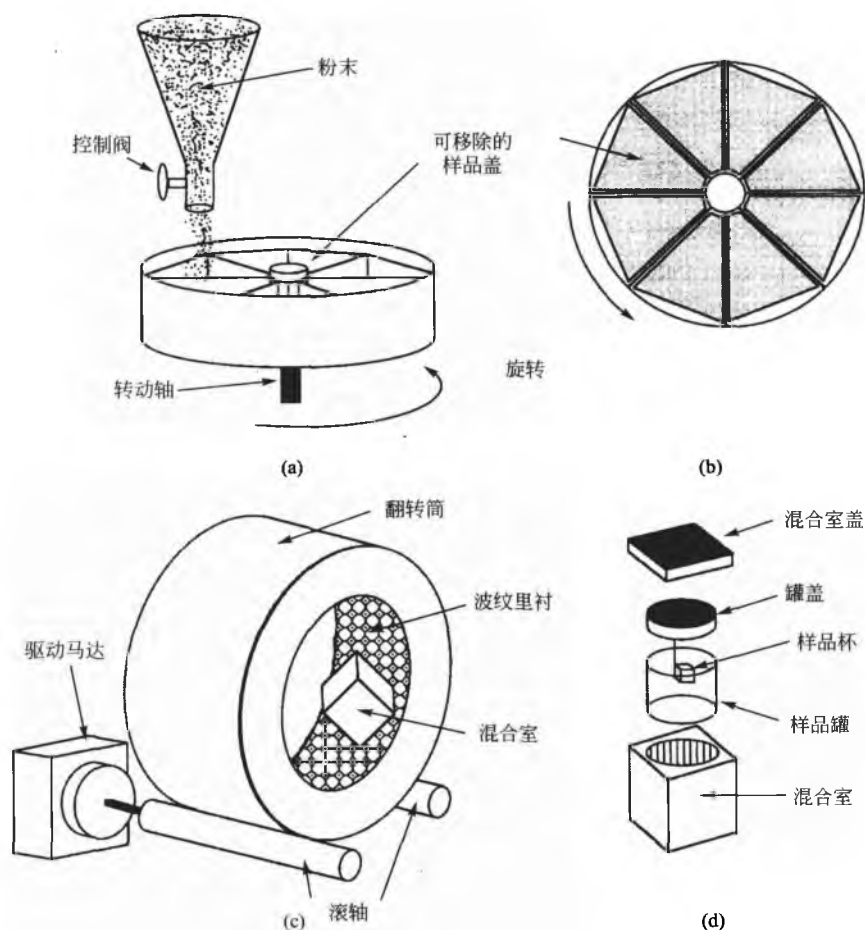


图 1 两种用于从大量样品中取少量代表性样品的装置。(a) 采用旋转取粉器可取到代表性的样品<sup>[7]</sup>；(b) 旋转取粉器亦由几个可移除的样品组成；(c) 无序生成装置，如自由落体翻滚的混合器，可用于混匀粉末样品和取样<sup>[11]</sup>；(d) 样品混合室的剖面图

另外一种采样方法由 Kaye 和他的合作者发明, 在该过程中, 粉末被彻底混合, 任何随机的取样都得到有代表性的样品<sup>[9,10]</sup>。该技术采用的装置如图 1 (c) 所示。混合室置于衬有波纹泡沫的旋转鼓形圆筒内。泡沫有两个作用:

一是促进混合室的安静翻转; 二是增强鼓形圆筒的提升力, 将部分填充的混合室沿鼓形圆筒内壁向上提升, 直至其无序翻转至新的平衡位置, 接着再一次提升翻转。混合室的无规则翻转为粉末混合创造了理想的条件, 短暂的混合也

能有效混合各种成分<sup>[11]</sup>。在翻转过程的最后,在混合小室的盖子上有一个小的取样杯,可用来取有代表性的样品。翻转小室可以有各种不同的几何形状,而且如果用了波纹泡沫,甚至普通的实验室广口瓶也可以用来翻转。如果广口瓶内容物超过了一半,则会降低混合的效率,因为此时限制了粉末在小室中自由、随机地运动。在实验过程中,如果样品已经放置了一段时间或者倾倒在实验室环境中,建议用该类型的装置将粉末样品混匀,然后再进行二次取

样。粉末离析机制在实验室中远比想象中来得广泛<sup>[12,13]</sup>。

图2为Kaye等发明的新的气动采样器。该装置的优点为:通过改变烧结滤板在中心管中的位置,可以取到任何特定大小的样品。中心管的作用是将样品吸到装置中。同心管中贯穿着流动的气体,使得取样装置可以在粉末中移动到特定的位置。当到达取样位置后,中心管中的气流反转以吸取所要的样品<sup>[14]</sup>。

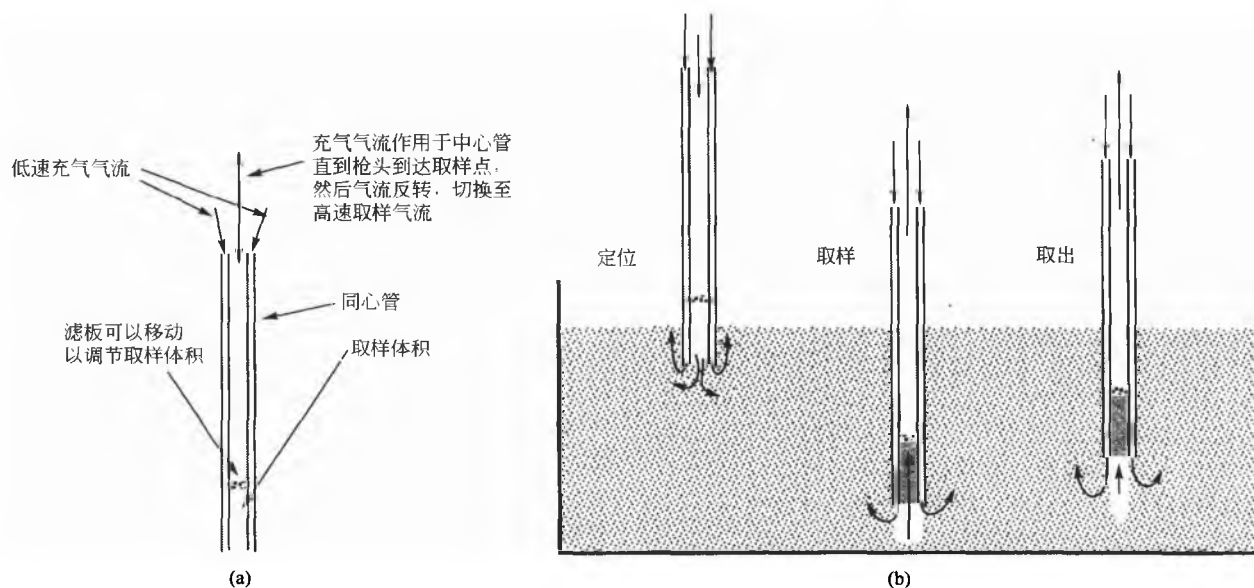


图2 改进的气动采样器采用同心管的结构。两根管子的低速充气可以很方便地定位枪头,而不干扰粉体。一旦到达取样位置,在中心管中通高速气流,在滤板下方吸住样品。(a) 气动取样器的结构;(b) 从粉体中取样的过程

气雾剂采样时采用圆盘撞击器将气雾剂分为不同的粒径范围。Kaye已经报道了有关这些装置的完整讨论<sup>[1]</sup>。气雾剂还可以通过不同的过滤系统来取样,用于随后的图像分析。如果采样过程的目的是产生沉积,可以通过带有图像系统、表面滤器的显微镜来检查,如各种孔径的核孔过滤器和类似的聚羧酸酯过滤器用于过滤气雾剂<sup>[15~17]</sup>。传统的纸过滤在技术上被认为是深度过滤器。尽管有时候浸油使深度过滤透明,通常还是难以在深度过滤器上看到细颗粒,因为它们进入过滤器的孔结构中<sup>[18]</sup>。

治疗用气雾剂的粒径大小分布研究给专家们制造了一个非常困难的取样任务。只要有可能,气雾剂的粒径测定应该用衍射仪原位测定,后面会讨论。

## 样品的制备

在很多情况下,用于测定的粉末样品必须制成特殊形式。因此,粉末要平铺在玻片上才能进行显微镜检查,或者将合适的气体或液体混悬。分散粉末的过程会显著改变其粒径分布,制备测定样品的过程应该考虑到细颗粒的操作完整性。因此,如果粉末要在水溶液中分散,超声会分散聚集块,而这些聚集块正常情况下会在生产和使用的全

过程中均存在。

通常,在测定前分散粉末的技术应该与使用时分散力的强度相匹配。另外,如果用超声来获得分散良好的粉末,应严格确定分析操作方案,以避免操作者之间的波动。经常都用分散剂,但要特别注意,因为它们会从根本上改变系统的结构<sup>[19]</sup>。

## 细颗粒和粉末的粒径检查

### 1. 直接用显微镜和其他图像分析装置检查

Heywood和Hausner分别用显微镜和其他图像检查装置,进行了广泛的开创性的细颗粒性质研究<sup>[20,21]</sup>。在这些早期的研究工作中,通过与作为目测网(eye piece reticule)的一套标准圈直接比较来测得轮廓的面积、大小<sup>[1]</sup>。最近,开发了一些复杂的系统用于计算机辅助图像分析<sup>[1,22]</sup>。

处理逻辑的能力增强、现代计算机辅助分析系统的参与,使得用Fourier分析技术对细颗粒表面的形态进行分析、用不规则图形来描述结构成为可能。Fourier分析技术可以在一维或二维条件下进行操作<sup>[23]</sup>。当在一维空间用

## K

Fourier 分析探讨颗粒轮廓的结构时,在颗粒表面要设一个参考点,通过沿着轮廓的周长以均匀的角速度旋转向量而得到几何标记波形。以向量的强度和向量的角度绘图形成波形。这个波形用 Fourier 分析而得到与波形结构有关的各种和声学的功率谱。该技术对圆形的物体有用,但如果物体表面有深度的凹陷或轮廓有锐边,则产生复杂的信息。对这些轮廓,可以通过计算机进行二维 Fourier 转换<sup>[23,24]</sup>。

从不规则几何学理论建立了一个不同的用来描述粗糙外部轮廓结构的方法<sup>[24~29]</sup>。不规则几何学的基本概念是在系统的拓扑维中加入分数来描述该系统的空间充填能力。因此,在图 3 (a) 中,所有的线条都有一个拓扑维。在这个维中加入分数形成了线条的界面不规则维,即描述线条粗糙度的参数。图 3 (b) 显示了用设备来评估粉末轮廓的不规则维的基本逻辑。多边形是在轮廓数字化形式上建立起来的,沿着轮廓以一定的间隔可以有一系列的  $x$ 、 $y$  来相应地代表轮廓。由这个方法构建得到的多边形可以估计周长,其检查分辨率由沿着轮廓的间隔数决定。为了估计难度不规则轮廓的大小,以周长估计的标准化值与标准化的分辨率绘图,如图 3 (c) 所示。由于对弯曲的轮廓(如这些岛状物)的开创性研究,这些图形称为 Richardson 图<sup>[25,26]</sup>。Richardson 图上的数据线的斜率代表了加到拓扑维上的分数,可用来描述结构的界面。从图 3 (b) 中研究的轮廓来看,一些细颗粒表面在不同水平的检查中表现出不同的不规则维。因此,在这些轮廓中,那些被认为是结构界面的不规则维是由过程分辨率数据显示的,而那些被认为是质地界面的不规则维是由高分辨率检查显示的。结构不规则维大概支配着粉末颗粒的填装和流动性,然而质地不规则维支配着溶解速度、吸附容量和化学活性。

由于细颗粒的图像揭示了大量的可视化信息,现在有一个趋势将图像分析检查作为所有其他检查的基本方法。用图像分析检查一个系统的主要问题是很难决定什么构成单独的、操作上的功能性细颗粒。用显微镜研究粉末时不能记录覆盖表面的密度,因为将细颗粒随机铺在表面上时会把它们看成是预先形成的团块,这是报告中数据不确定的主要来源<sup>[30]</sup>。

## 2. 过筛分级

在粉末颗粒大小范围的测定中,筛分的应用十分广泛。在该技术中,一定量的粉末在有特定的均匀孔径的表面上被分为两部分。与筛分测定有关的两个主要问题是:难以确定在哪一点分级就完成了;新筛和旧筛的孔径大小的变化。文献 [1] 和 [22] 中有关这两个问题的讨论。编织筛表面的显微照片见图 4 (a),显示了与筛孔径变化有关的问题。图 4 (b) 显示了用各种方法研究得到的筛孔径变化数据<sup>[31]</sup>。将编织表面进行投影得到中位直径,即筛的操作直径,筛孔的分布可以用图像分析技术来测量。用该法测定的孔径分布可以用筛标示孔径来校正。图 4 (b) 中的数据

表明孔径是呈 Gauss 分布的。

在另外一项技术中,用筛分离球形玻璃珠,当余下的大体积的玻璃珠倒出后,与网筛大小接近的玻璃珠被卡在筛孔中,需要翻转筛在表面用力敲打才能将它们倒出来。随后,测量用这种方法收集到的玻璃珠的大小。如果在这个实验中采用了不规则形状的粉末,典型的一些卡在筛中的颗粒就可以用于测定颗粒轮廓的形状分布,如图 5 所示。电刻筛的孔径大小分布非常窄,但易碎,且比编织筛更贵<sup>[1]</sup>。

## 3. 沉降技术

沉降技术用等效球体方法来评估颗粒的大小。在层流条件下,等效球体颗粒有相同的沉降速度,这是许多测定细颗粒的技术的基础。制备了细颗粒的混悬液,用浸泡天平盘或用光束、X 射线束来监测细颗粒并测定沉降速度。测到的细颗粒沉降速度与其他合适的混悬液参数一起,代入 Stokes 方程:

$$d_s = \sqrt{\frac{18\eta t}{(\rho_p - \rho_L)gh}}$$

式中:  $d_s$  为颗粒的 Stokes 直径;  $\eta$  为液体的黏度;  $g$  为重力加速度;  $h$  为一定时间内沉降的距离;  $t$  为降落距离  $h$  所需要的时间;  $\rho_p$  为粉末的密度;  $\rho_L$  为液体的密度。

实际测量细颗粒 Stokes 直径的仪器构造随不同的生产厂商而不同<sup>[1,22]</sup>。用光束监测细颗粒沉降的仪器为光测沉降计。当监测混悬液动力学的波长接近颗粒的直径大小时,浓度测量的解释十分困难,有些设备用 X 射线束来监测细颗粒的运动。还有一些设备用离心力来加速混悬细颗粒的沉降。

在 20 世纪 50~60 年代,沉降方法是主要的研究颗粒性质的方法。最近几年,在粉末研究实验室它逐渐被衍射仪所替代。衍射仪的优点是速度快,但是在解释衍射光信号时出现了问题。Micromeritics 公司生产的基于 X 射线的沉降计,称为 Sedigraph,得到广泛的使用,部分原因是该法写入了一些关于颗粒测定的工业标准中<sup>[32,33]</sup>。

在最近几年,通过 Provder 及其同事与 Brookhaven 实验有限公司的合作,碟式离心机再次用于研究粒径小于  $1\mu\text{m}$  的细颗粒<sup>[34]</sup>。

## 4. 衍射仪

激光的出现使得混悬细颗粒液产生衍射成为一个相对容易的工作。同时,快速发展的计算机处理设备和专门的光电池也使得处理一组衍射模式的信息,并生成混悬液中细颗粒的粒径分布成为可能。率先上市的为 Autometrics 公司的 CILAS 装置,它能从随机分散的细颗粒衍射模式中生成颗粒大小分布的信息,在法国开发用于测定水泥粒径的大小分布<sup>[35]</sup>。生产衍射仪的公司没有透露他们软件的结构。当某个机器将衍射信息更改为粒径分布函数后,用户应注意数据处理协议中的信息。一些设备提供了一个假定的分布函数和曲线拟合以加快数据处理。有时这样的曲线



拟合可能歪曲生成的数据<sup>[36]</sup>。一些仪器厂商提供了有关他们的仪器的大量的技术数据，国际标准组织现在正在制订

一套衍射仪的标准规程。激光衍射仪特别适用于研究喷雾剂和气雾剂的雾粒的粒径分布<sup>[37~43]</sup>。

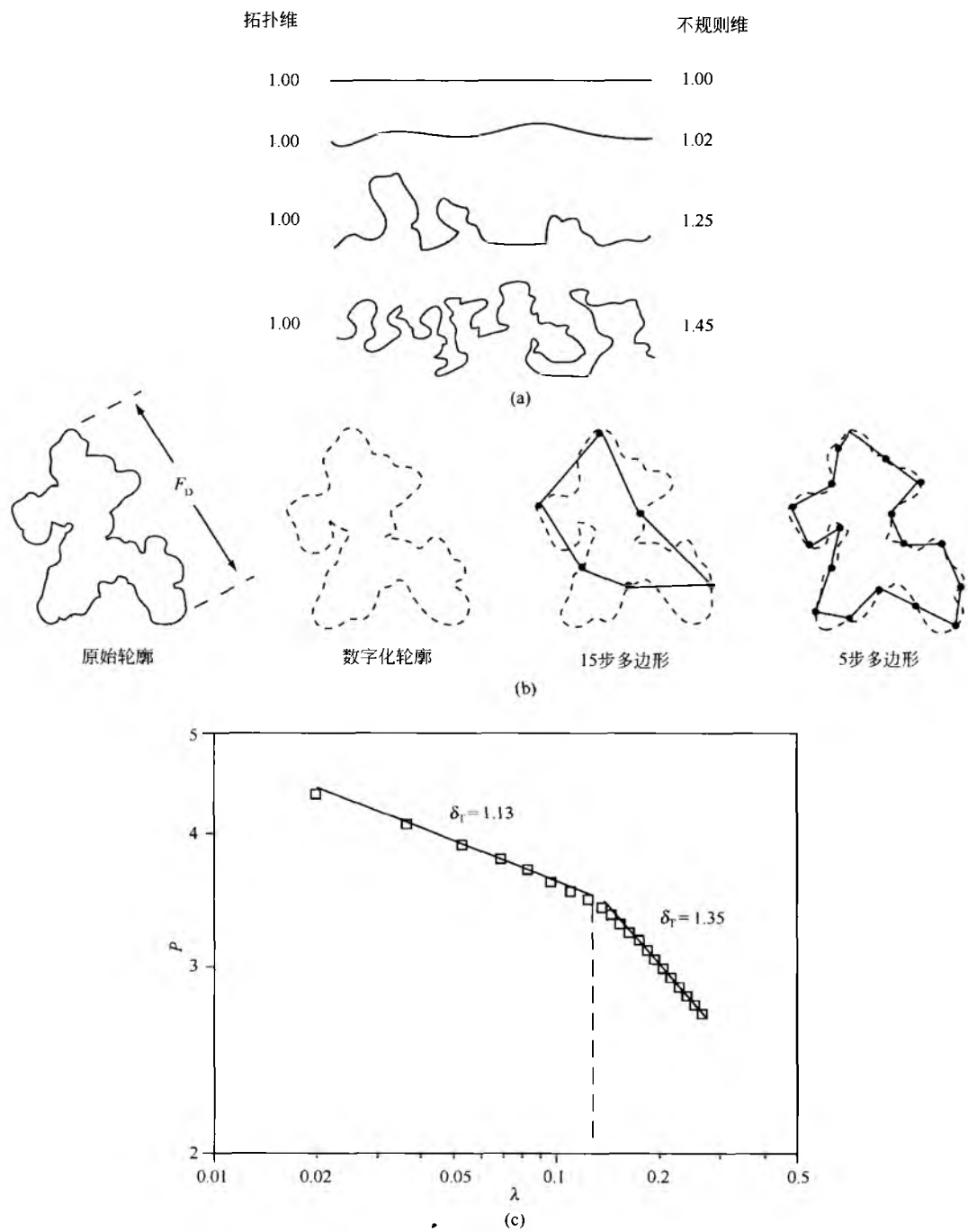


图3 不规则维可以用来评估细颗粒的粗糙结构。(a) 不规则维用来描述各种线条的粗糙度；(b) 用来评估粗糙界面不规则维的设备的物理基础；(c) 等步、检测技术得到的b外形数据、 $\delta_s$  指结构界面的不规则维， $\delta_r$  指构造界面不规则维

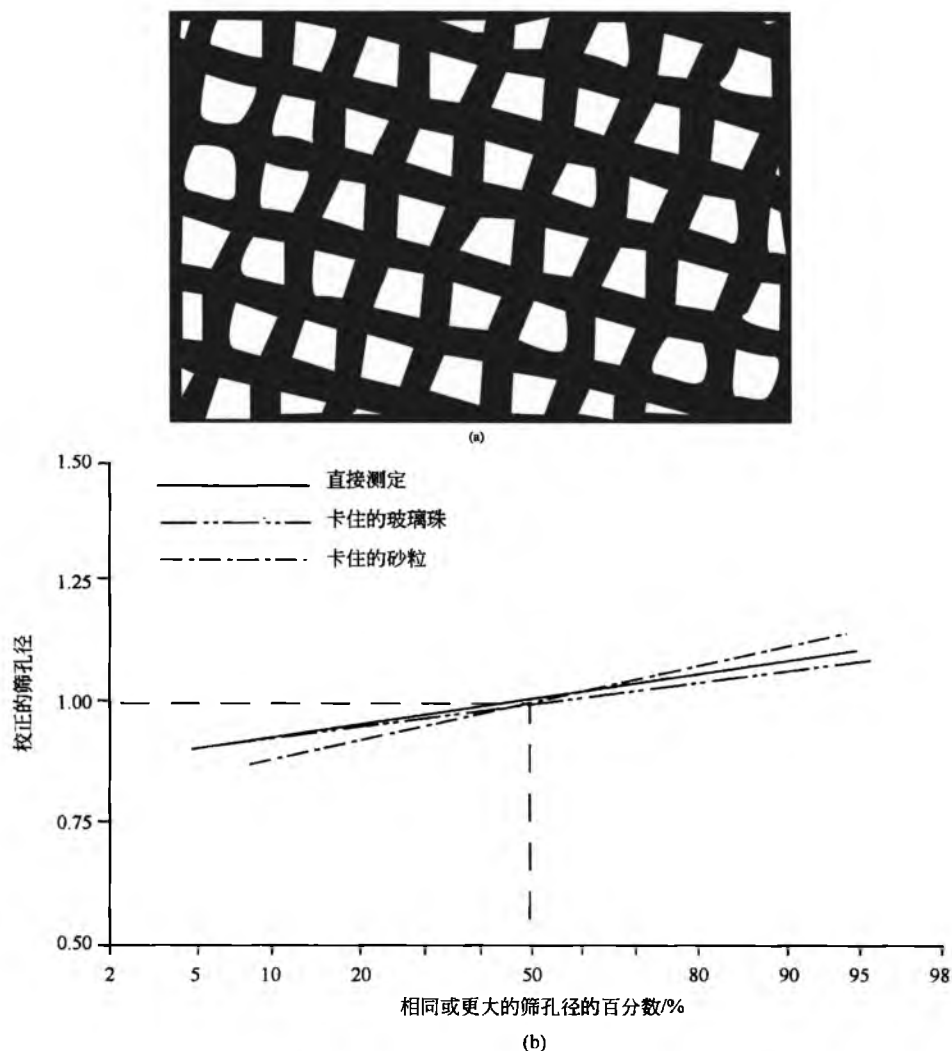


图 4 编织筛孔径的变化可以有多种方法测定：(a) 编织筛的照片；(b) 孔径大小的改变可以由直接检查、检查与孔隙大小类似的颗粒过筛时被卡在筛孔中两种方法来测定

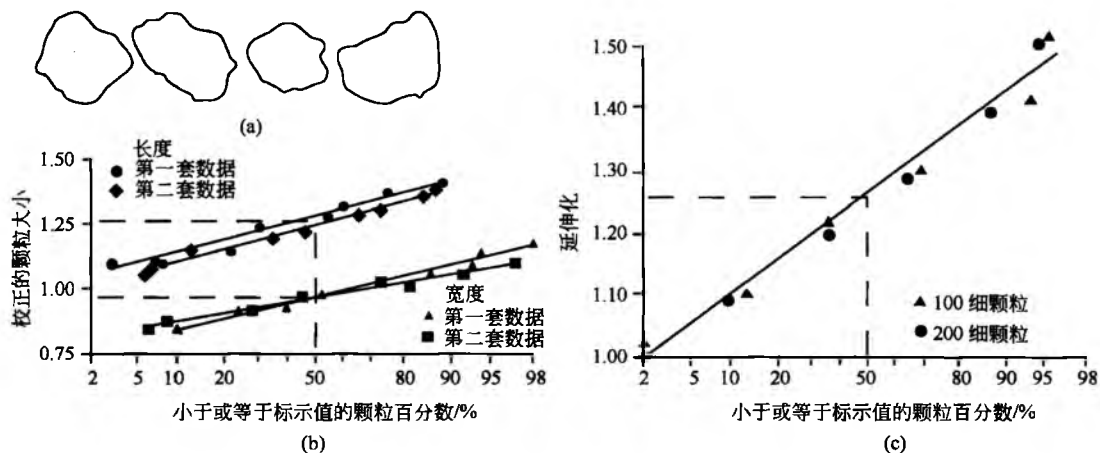


图 5 当用卡住的不规则形状的颗粒来校准筛孔时，得到的粉末颗粒可以用来描述粉末颗粒形状<sup>[31]</sup>：(a) 卡在筛孔中的典型的砂粒的轮廓；(b) 卡在筛孔中的砂粒的长度和宽度分布；(c) 卡在筛孔中的砂粒的延伸比（形状）分布

## 5. 飞行时间仪器

第二种也是得益于激光的装置就是常说的飞行时间装置，它采用聚焦狭窄的激光束探测混悬液。混悬液中的颗粒大小是通过激光束穿过细颗粒轮廓的时间来测定的。装置采集的信息通过复杂的光学记录装置和电子编辑器产生颗粒大小分布的数据。

由以色列 Galai 仪器公司开发和上市的仪器，已经由 Brinkmann 机构在美国销售多年，但是现在直接由 Galai 仪器公司销售。如图 6 所示，这个装置的一个有用的特点是当扫描激光束测定细颗粒时，它们还同时在电视屏幕上成像，可以在分析过程中直接观察颗粒是否聚集。Galai 系统的设计允许细颗粒的形状和大小同时测定<sup>[44]</sup>。

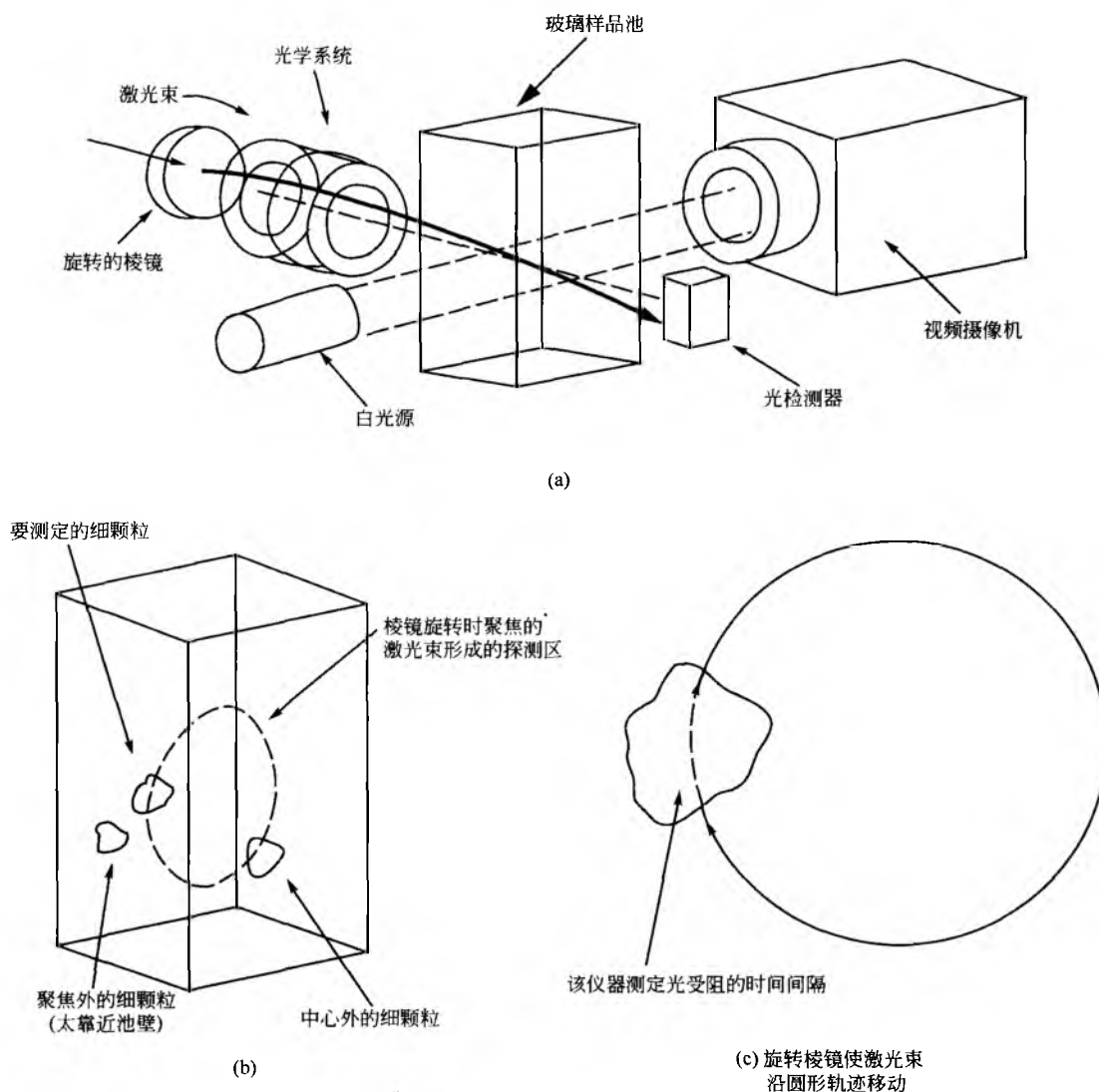


图 6 Galai 粒径分析仪利用一个激光束和一个旋转楔形棱镜，通过颗粒阻断光到达光电探测器的时间长度来测量颗粒的大小。(a) Galai 仪器的基本结构；(b) 在样品池中，激光束形成一个环形的轨迹，并且该设备的逻辑操作拒绝任何离开中心或焦点的颗粒；(c) 激光束被阻断的时间长度与颗粒大小有关<sup>[44]</sup>

第二种飞行时间粒径分析仪是 Bellevue 公司的 LASENTECH。该系统是可移动的，可以作为在线检测器用于系统中移动的细粒子和实验室检测<sup>[45]</sup>。第三种飞行时间粒径分析仪是 TSI 公司的 Aerosizer<sup>[46]</sup>，气雾剂细粒子的气流被加速穿越两束激光间的缝隙，通过两束光上散射的光信号来测定通过这个缝隙所需要的时间，并且电子编辑器保证了对每个系列的单次测定。大的粒子加速穿越缝隙

时慢，而最小的粒子的运动速度达到了喷气式飞机的水平。该系统可用标准粒子校准。

TSI 还生产一种与之相似的仪器。测量气雾剂粒子的空气动力学直径的基本系统如图 7 所示。使用这个仪器，运动颗粒的速率被加速通过检查区域时，由两束光的多普勒位移测定，两束光对运动的气流有不同的方向参照。从一个方面看，两束激光可以被认为形成了干扰边缘，而

气雾剂粒子运动穿过边缘系统产生了一个振动信号,通过校正与细粒子粒径相关。用该仪器测定运动颗粒穿越交叉激光束的空气动力学粒径,涉及激光多普勒位移,这一点

并不能立即从销售该种仪器的公司的资料中显示出来。的确,这种类型的设备,它的解释理论是复杂的,使用者常常需要一个校准的仪器进行粒子表征研究<sup>[46,47]</sup>。

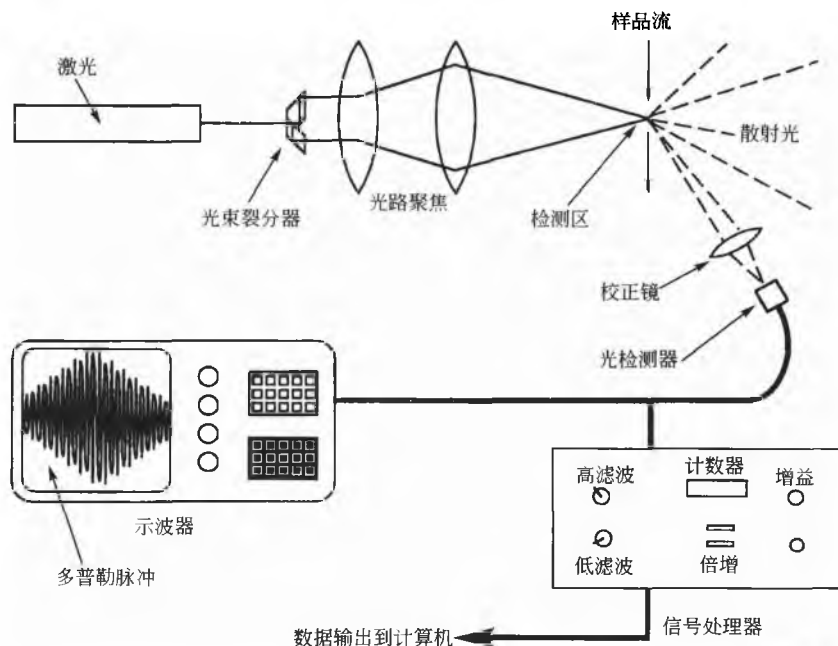


图7 TSI气雾剂粒径分析仪测量气雾剂粒子的空气动力学粒径的多普勒位移过程<sup>[1,46]</sup>

## 6. 光子-校正光谱

有一种仪器,观测者不能立即观察到测量的物理过程,被称为光子校正、动态光散射或类弹性光散射分光镜(就是通常所说的PCS、DLS或QUELS)。在这里使用光子校正光谱这个术语<sup>[48~51]</sup>。它的物理基础是监测由亚微米细粒子的布朗运动所产生的反射激光的多普勒位移。在有些情况下,这项技术还可以用于直径几微米的颗粒。实际上测定多普勒位移的设备是相当简单的,但是总费用随包括在内的数据处理而增加。该仪器用于研究相对简单的粒径分布,如乳胶混悬液。然而,用这个仪器解释分布很广的混悬液粒子,会涉及复杂的数据处理,如果操作不正确,会生成令人糊涂的数据<sup>[48,50,51]</sup>。

## 7. 流计数器

流计数器也是粒径测定仪器,细粒子流穿过检测区。该区域的物理性质随粒子的出现而改变,细粒子的粒径可以从这种改变中推算。在Coulter计数器中,要检测的粒子置于电解质中,该混悬液流过两个电极间的小孔,如图8所示<sup>[52]</sup>。测定电极间的电阻变化可以推算粒径的大小。

流计数器的一个主要问题是细粒子在检查区域的单独占有,如果不注意时有两个颗粒在小孔中,会被认为是一个大颗粒,而且小粒子的计数有两个不足。这种类型的错误被称为是主计数损失(小粒子计数不足)和其计数过多(由于在检查区的多占位而错误地增加大粒子的数量)。正

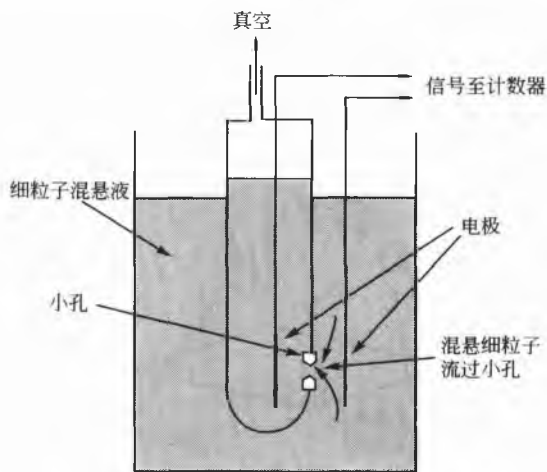


图8 Coulter计数器的运行示意图<sup>[52]</sup>

常地说,用这种类型的设备分析是进行一系列稀释,直到进一步稀释不影响粒径分布时进行的。有时这种方法遇到的困难是难以获得与待测粒子不相互影响的传导液。多年来,采用了各种各样的复杂的数据处理技术以解决与Coulter计数器相关的问题,例如,粒子与小孔壁太接近了,或者粒子呈极端的形状<sup>[1,22]</sup>。

在另外一类流计数器中,检查区域的粒子由光束监测。已经开发了各种各样的这类设备,用于计数液体中的颗粒,其他专门计数空气中的尘埃粒子<sup>[1,22,53~55]</sup>。

## 8. 淘析器用于粒子研究和细粒子筛分

淘析器 (elutriator) 为一类仪器, 可以在流动液体中根据粒子大小而筛分细粒子。它们属于最早的通过筛分细粒子并分别称量来测量其粒径分布的装置之一。滚筒淘析器广泛地用于粉末金属工业<sup>[1]</sup>, 在最近几年, 淘析器在通常的应用中, 已经倾向于被衍射仪和其他基于光的设备所取代。然而, 它们在将粉末筛分为不同的粒径, 用来研究物理性质的变化与粒径的关系方面仍旧非常有用。因此, 药物粉末可以被筛分为各种粒径, 来研究药物的生物利用

度与颗粒大小的关系。图 9 显示了用来筛分粉末和研究气雾剂小粒子的三种基本类型的淘析器。图 9 (a) 为重力淘析器, 空气或其他合适的液体经过过滤器上的颗粒向上运动。当空气穿过柱子时, 可以调节移动液体的速度, 使得所有小于特定大小的小粒子从淘析器移到收集器, 而收集器可能是一个过滤器或旋风分离器。粒径限度决定了仍旧保留在淘析器中的小粒子的大小 (称为淘析器截留粒径)。因为很难控制液体的运动, 还因为紊流、淘析器的截留粒径、筛分能力不精确, 有必要用显微镜或其他合适的装置来研究给定的淘析器中粉末的实际筛分。

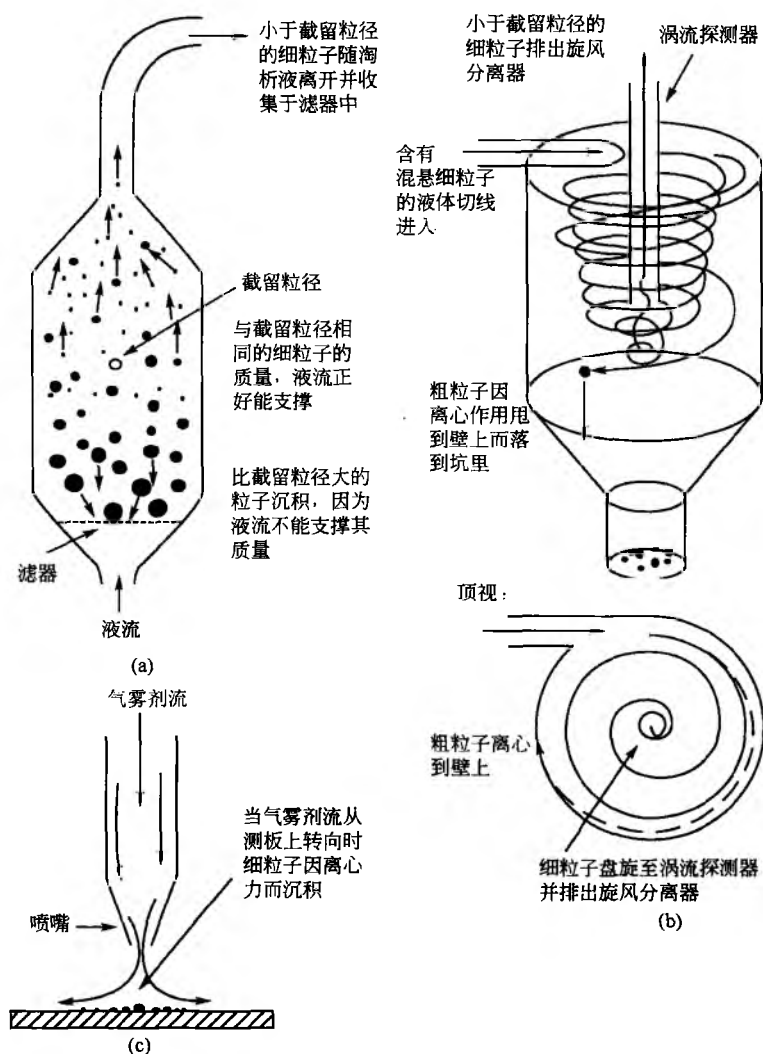


图 9 淘析器可以用重力或离心力来筛分规定大小以下、以上的颗粒。(a) 重力淘析器;  
(b) 旋风分离器 (离心淘析器); (c) 撞击入器<sup>[1]</sup>

旋风分离器在工业上广泛用于筛分粉末。旋风分离器的运行, 实际上就是一个离心的淘析器, 如图 9 (b) 所示<sup>[56]</sup>。含有要筛分的颗粒的液体混悬液流切线进入圆柱体的顶部, 液流沿着旋风分离器螺旋而下, 直到它可以反向流动经过涡流探测器管道离开为止。由于所给的液流沿着旋风分离器的机身旋转, 混悬液中的粗粒子因离心力甩到

壁上。在壁上, 粗粒子掉到旋风分离器的圆锥底部。旋风分离器的截留粒径, 由旋风分离器的大小和液体流速决定, 确定多小的细粒子要经过探测器而离开。小型旋风分离器广泛用于职业的卫生研究<sup>[56]</sup>。

另外一种从气流中沉积小粒子的装置是喷气式撞击器, 如图 9 (c) 所示。含有混悬粒子的气流被甩到玻璃板上,

由于玻璃板在喷射器的下方,气流被迫转向,离心力迫使混悬的小粒子停留在玻璃板上。正好沉积在玻璃板上的最小颗粒,是由喷嘴-玻璃板结构和气流移动经过装置的速率所决定的<sup>[1]</sup>。

Giddings 及其同伴发明了一系列的交叉流分类器,也就是现场流筛分装置。这个过程通常称作 FFF, Giddings 定义它为“一类能够分离、表征大分子和凝胶范围以及更广泛的范围内的材料的高分辨技术”<sup>[57]</sup>。FFF 的应用横跨 10~15 倍的质量范围,也就是扩展到相对分子质量小于 1000、直径达 100 $\mu\text{m}$  的粒子。各种颗粒,包括细胞、亚细胞颗粒、病毒、脂质体、蛋白质聚集体、飞灰、水凝胶、工业用乳胶和色素,均可以分离。

### 9. 粉末表面积的测定

在粉末研究中,其表面积是一个重要的参数。它可以通过气体吸附研究来直接测定。气体或其他分子,如染料

分子,吸附在粉末上形成单分子层,其量可以测定。一些书已经描述了气体吸附研究的理论和方法。在 1977 年以前,人们认为通过气体吸附测定表面积的基本问题之一是:吸附分子的交错部分面积使得依靠气体来测定的结果具有不确定性<sup>[58]</sup>。最近几年,从分形几何学的角度再次解释了表面积的气体吸附研究<sup>[59]</sup>。现在认识到利用所给的气体测定表面积依赖于粗糙表面对吸附分子的易接近性,如图 10 (a) 所示。在对一系列体积逐渐增大的吸收性分子的研究中,Avnir 等已经证明将估计表面积与分子大小绘图得到 Richardson 图,从中可以推导出粉末表面的不规则粗糙度<sup>[59,60]</sup>, Avnir 等绘制的图如图 10 (b) 所示。该数据线的斜率可以用来推导粗糙表面的不规则直径。对粉末粗糙程度的不规则描述对于药物或其他具有化学活性的粉末来说是一个重要的参数。Neimark 最近通过研究液体在粉末上的毛细浓缩描述了一个用来计算表面积和粉末粗糙程度的方法<sup>[61]</sup>。

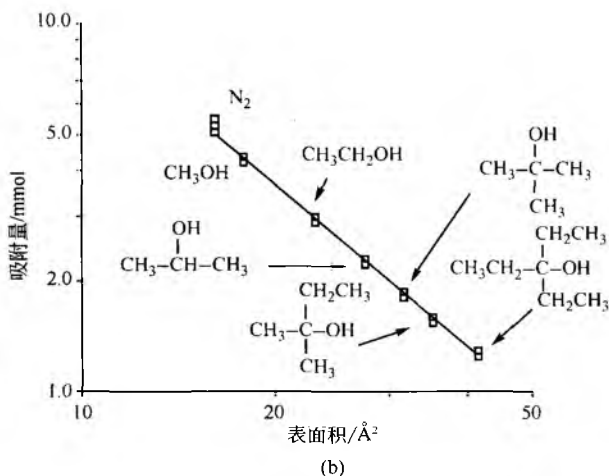
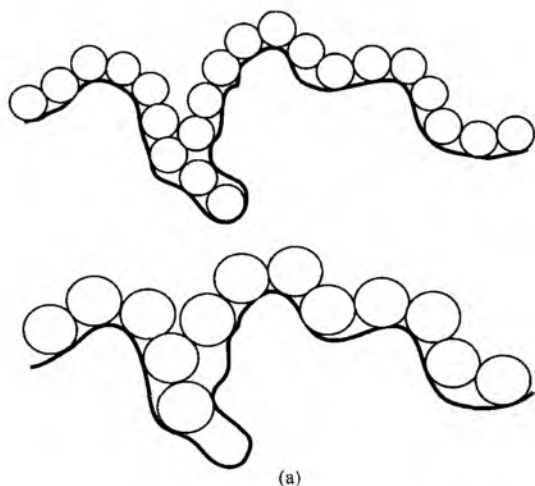


图 10 气体吸收数据允许测定粗糙表面的不规则直径。(a) 用覆盖在表面上的气体分子数来估计表面,该估计取决于气体分子的大小; (b) 表面的不规则直径从许多不同大小分子的气体吸收研究的结果推导而来<sup>[59]</sup>

粉末的细度可以通过渗透技术研究,测定粉末塞的液体流动阻力,粉末的细度通过各种方程(如 Kozeny-Carmen 方程)计算阻力来推算。用渗透性参数计算表面积的方程式做了数个关于填塞的粉末床上孔结构的假设,而且用渗透性研究测定的表面积应该只能看成是对粉末细度的测定而不是对表面的绝对测定。过去,测定的仪器(如 Fisher Subsieve 粒度仪和 Blaine 细度测试仪)都是基于渗透性的方法,已经广泛应用于工业界,而且仍然在工业中用于质量控制。渗透性方法的一个主要的优点是运用了大量的粉末,可以将取样问题最小化<sup>[62,63]</sup>。

### 孔径分布测定

当对填充的粉末床或多孔性粉末颗粒结构的孔径感兴趣时,可以用水银侵入技术来研究孔结构。图 11 显示

了用水银侵入技术测定多孔性颗粒粉末床结构的数据<sup>[64]</sup>。不同压力下,进入粉末床的水银的量用来产生数据。利用所知道的水银和粉末材料的接触角,所用的压力可以被转换为汞在毛细管中运动的压力。然而,总是有一些关于水银侵入数据的物理重要性的争论,因为它只测定了可进入的孔径,而没有测定颈后的孔隙体积(用孔径大小说明水银侵入数据的理论通常以墨水瓶作为解释的模型,墨水瓶的颈部代表了渗透直径,而不是墨水瓶颈部以下的直径)。图 11 (a) 中的数据显示:在低压力下,水银进入粉末颗粒间的空隙,而当压力约为 2000psi (13.8MPa, 1psi = 6.89476 $\times 10^3$  Pa) 时,水银开始进入粉末颗粒内的空隙,通道直径为 0.1 $\mu\text{m}$ 。最近显示,传统方法测定的水银侵入数据可以加以修订以生成数据空间的不规则直径。图 11 (a) 中的修订数据见图 11 (c)。这些图的斜率  $\alpha$  和  $\beta$  是数据空间里的不规则尺度<sup>[65,66]</sup>。

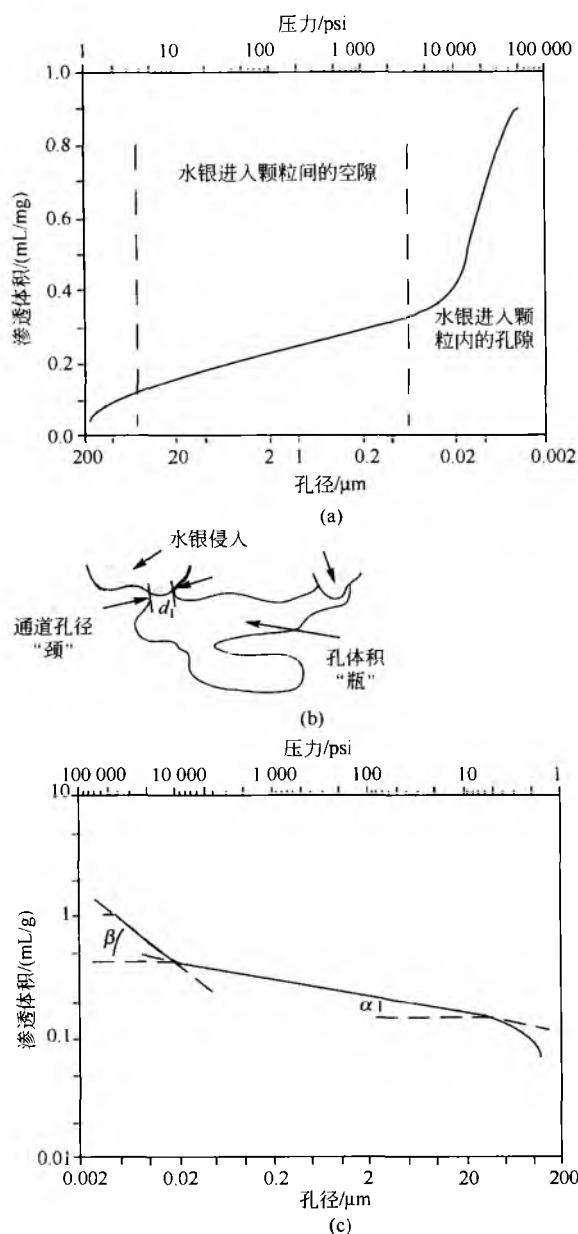


图 11 水银侵入孔洞测定涉及增加研究用样品的施加压力和计算进入样品中孔隙的水银体积。(a) 传统的水银侵入数据的表示；(b) 水银侵入“墨水瓶”理论的物理意义总是争论的主题；(c) 一个可能的对 (a) 数据的重新解释。 $\alpha$  和  $\beta$  是结果曲线特殊区域的斜率，可以解释为不规则直径

## 标准参考粉末

一些生产测定细颗粒性质的仪器厂家宣称，他们的仪器不需要校准。对这样的宣称要持怀疑态度。事实上，许多测定粒径的仪器需要用多个厂家的标准粉末来校准<sup>[67,68]</sup>。因为各种研究粉末粒径分布的方法评估了不同的物理参数，用不同方法测定的粉末粒径分布数据并不总是一致的。用

不同方法评估的分布函数间的关系，应该用实验来进行研究<sup>[69~72]</sup>。

## 参考文献

1. Kaye, B. H. Characterization of Powders and Aerosols; Wiley-VCH: Weinheim, 1999.
2. Kaye, B. H. Efficient Sample Reduction of Powders by Means of a Riffler Sampler. Soc. Chem. Ind. Monogr. 1964, 18, 159—163.
3. British Standards Methods for the Determination of Particle Size Powders. Part I, Subdivision of Gross Sample Down to 0.2 ml; BS3406, Part 1; London, 1961.
4. Kaye, B. H. An Investigation into the Relative Efficiency of Different Sampling Procedures. Powder Met. 1962, 9, 213—234.
5. Sampling Equipment Literature is available from Gustafson, 6340 LBJ Freeway, Suite 180, Dallas, TX 75240.
6. Sampling Equipment Literature is available from Gilson Company Inc., P. O. Box 200, Lewis Center, OH 43035.
7. Information on the Spinning Riffler System is available from Microscal Ltd., 20 Mattock Lane, Ealing, London, W5 SBH.
8. Kaye, B. H. Powder Rheology. Powder Mixing; Chapman & Hall: London, 1997; 103—161, Ch. 3, Now available through Kluwer Academic Publishers; Dordrecht, The Netherlands.
9. Kaye, B. H. Chaos and Complexity; VCH: Weinheim Germany, 1993; 148—154, See also Section 5.2, Poisson Tracking as a Technique for Studying Chaotic Conditions in a Mixer, in Ref. 8, 220—223.
10. Kaye, B. H.; Clark, G. G.; Bohan, Monitoring Mixer Performance using the Size Distribution Information on Samples taken from a Mixing Process. In Proceedings of Fine Powder Processing 99, The Pennsylvania State University, University Park, PA, Sept, 20—22, 1999.
11. Kaye, B. H.; Clark, G. G. In Evaluating the Performance of Chaotic Powder and Aerosol Sampling Devices Using Tracker Fineparticles Proceedings of PARTEC, Nürnberg Conference on Particle Size, May, 1989; Nürnberg Messer Centrum, Nürnberg, 1989.
12. Kaye, B. H.; Turbitt-Daoust, C.; Clark, G. G. Segregation Dynamics of Powders Subjected to Vibration Proceedings of the Powder and Bulk Solids Conference, Rosemont, IL, May, 4—7, 1998; Reed Exhibition Companies, Norwalk, CT, 1998.
13. Kaye, B. H.; Fairburn, M.; Clark, G. G. Techniques for Monitoring and Combating Segregation in Powder Systems, Proceedings of the Powder and Bulk Solids Conference, Rosemont, IL, May, 10—13, 1999; Reed

Exhibition Companies, Norwalk, CT, 1999.

14. Kaye, B. H.; Fairburn, M.; Hood, K. A. Efficient Sampling Protocols. In Proceedings of the Powder and Bulk Solids Conference, Rosemont, IL, May, 8—11, 2000; Proceeding published by Reed Exhibition Companies, Norwalk, CT.
15. Pall Gelman Laboratory, 600 South Wagner Road, Ann Arbor, MI 48103—9019 USA.
16. The Poretics Corporation, 151 Lindbergh Avenue, Livermore, CA.
17. Collimated Holes Incorporated, 460 Division St., Campbell, CA 95008.
18. Allen, T. Application of Precision Transparent Sieves to the Determination of Low Number Concentrations of Oversized Particles in Powders. Part. Part. Syst. Characteristics; Wiley-VCH: 1992; 9, 252—258.
19. Parfitt, G. D. Dispersion of Powders in Liquids, 2nd Ed.; Wiley: New York, 1973.
20. Heywood, H. H. Size and Shape Distribution of Lunar Fines, Sample, 12057, 72. In Proceedings of Second Lunar Science Conference, Vol. 13, 1971; 1989—2001.
21. Hausner, H. H. Characterization of the Powder Particle Shape, Proceedings of the Symposium on Particle Size Analysis, Loughborough, England, 1967, Society for Analytical Chemistry, London, 20—27 (See also Ref. 1, 205—232.)
22. Allen, T. Particle Size Analysis, 4th Ed.; Chapman and Hall: London, 1992.
23. Kaye, B. H. Characterization of Powders and Aerosols; Wiley-VCH; Weinheim, 1999, The Use of Fourier Techniques to Characterize the Shape of Profiles in Ch. 2, Direct Measurement of Larger Fineparticles and the Use of Image Analysis Systems to Characterize Fineparticles, 21—58, and Ch. 7, Light Scattering Methods for Characterizing Fineparticles, 205—232.
24. Kaye, B. H. Part I; Rugged Boundaries and Rough Surfaces Applied Fractal Geometry and the Fineparticle Specialist. Part. Part. Syst. Charact. 1993, 10 (3), 99—110.
25. Kaye, B. H. Chaos and Complexity, Discovering the Surprising Patterns of Science and Technology; VCH; Weinheim Germany, 1993.
26. Kaye, B. H. A Random Walk Through Fractal Dimensions; VCH; Weinheim, Germany, 1989.
27. Mandelbrot, B. B. Fractals: Form, Chance, and Dimension; Freeman: San Francisco, 1977.
28. Schaeffer, D. W. Fractal Models and the Structure of Materials Matter. Res. Soc. Bull. 1988, 13, 22—27.
29. Kaye, B. H. Multi-Fractal Description of a Rugged Fineparticle Profiles. Part. Part. Syst. Charact. 1984, 1, 14—21.
30. Coincidences, Clusters and Catastrophes; Ch. 13, 483—534 in Ref. 25.
31. Kaye, B. H.; Yousufzai, M. A. K. Calibrating and Monitoring Woven Wire Sieving Surfaces. Powder Bulk Eng., 1992, (Jan. ), 29—34.
32. Sieves Sieving and Other Sizing Methods. In Draft of Standard Determination of Particle Size Distribution, Laser Diffraction Methods; International Organization for Standardization (ISO): Berlin, Germany.
33. Some of the Classical Sedimentation Equipment as well as other Sizing Equipment is Available from Gilson Company Inc., P. O. Box 200, Lewis Center, OH 43035.
34. Provder, T., Ed. Particle Size Analysis, ACS Symposium Series 332; American Chemical Society: Washington, DC, 1987.
35. CILAS U. S. A. available through Denver Autometrics, Inc., 6235 Lookout Road, Bolder, CO 80301. Company Headquarters in France, Osi 47, Rue de Javel, 75015 Paris.
36. Kaye B. H. Dangers of Curve Fitting in the Deduction of Size Distribution from Diffraction Data. Proceedings of the Powder and Bulk Solids Conference, Rosemont, IL, May 6—9, 1991.
37. Sympatec, Inc. Princeton Service Center, 34890 U. S. Route 1, Princeton, NJ 08540—5706.
38. See Trade Literature of Shimatzu Scientific Instruments Incorporated, 7102 Riverwood Drive, Columbia, MD 21046.
39. Holve, D. J. Using Ensemble Diffraction to Measure Particle Size Distribution. Powder Bulk Eng. 1991, 5 June (6), 15—19, See also trade literature of INSITEC, 2110 Omega Road, Suite D, San Ramon, CA 94583.
40. See Trade Literature of Coulter Counter Electronics, 590 West 20th St., Hialeah, FL 33010.
41. Malvern Instruments Incorporated, 10 Southview Rd., Southborough, MA 01772.
42. MICROTRAC System Manufactured by Leeds and Northrop Instruments, 3000 Old Roosevelt Blvd., St. Petersburg, FL 33702.
43. Fritsch GmbH, Industriestrasse 8, D-55743, Idar-Oberstein, Germany.
44. Technical Literature Available from Galai Production Limited, Industrial Zone, 10500, Migdal, Haemek, Israel.
45. LASENTECH is available from Laser Sensor Technology Inc., P. O. Box 3912, Bellevue, WA 98009.
46. TSI Particle Instruments/Amherst, 7 Pomeroy Lane,



- Amherst, MA 01002-2905, and TSI Inc., 2500 Cleveland Avenue, N. St. Paul, MN 55113.
47. Dantech Corporation, 777 Corporate Drive, Mahwah, NJ 07430.
  48. Weiner, B. B. *Modern Methods of Particle Sizing*; Barth, H., Ed.; Wiley-Interscience: New York, 1984; Ch. 3.
  49. See Technical Literature of Brookhaven Instruments Corporation, Brookhaven Corporate Park, 750 Bluepoint Road, Holtsville, NY 11742.
  50. Nicoli, D. F.; Wu, J. S.; Chang, Y. J.; McKenzie, D. C.; Hasapidis, K.; *Automatic High Resolution Particle Size Analysis by Single Particle Optical Sensing*. *Am. Lab.* 1992, July 24 (8), 39.
  51. Mazumder, M. K.; *E-Spart Analyzer: Its Performance and Applications to Powder and Particle Technology Processes*. *KONA* 1993, 11, 105—118, *KONA* is produced by the Hosokawa Micron International Inc., which Markets the E-SPART Analyzer; Literature is available from Micron Powder Systems (a member of the Hosokawa Micron group), 10 Chatham Rd., Summit, NJ 07901. (The term SPART Analyzer stands for: Single Particle Aerodynamic Relaxation Time analyzer).
  52. Information on the Coulter Counter is available from Coulter Electronics, Inc., 590 West 20th St., Hialeah, FL 33010.
  53. An Optical Stream Counter is available from the Clime Corporation, 1320 Colton Avenue, Redlands, CA 92373.
  54. Royco Instruments for Studying Aerosols and Fineparticles in Liquids are available from Royco Instruments, Inc., 141 Jefferson Drive, Menlo Park, CA 94025.
  55. The Widely used Stream Counter for Fineparticles in Fluid is the HIAC Counter, HIAC Instruments Division, P.O. Box 3007, 4719 West Brooke St., Monte Claire, CA 91763.
  56. Humann, W. L. *Cyclone Separators, a Family Affair*. *Chem. Eng.* 1991, June 8 (6), 118—123.
  57. Giddings, J.; *Field Flow Fractionation*. *Chem. Eng. News* 1988, Oct. 95 (10), 34. (For Information on Field Flow Fractionation Research Development and Industrial Applications, Contact Field Flow Fractionation Research Center, Department of Chemistry, University of Utah, Salt Lake City, UT 84112.).
  58. See Discussion of Gas Adsorption Methods in Ref. 22.
  59. Avnir, D., Ed. *Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry*; John Wiley & Sons: London, 1989.
  60. Takayasu, H., Ed. *Fractals in the Physical Sciences*; John Wiley & Sons: New York, 1990.
  61. Neimark, A. V. *Percolation Theory of Capillary Hysteresis Phenomena and its Application for Characterization of Porous Solids*. *Characterization of Solids II*; Rodrigues-Reinoso, F., et al. Eds.; Elsevier Science Publishers: Amsterdam, 1991; 67—75.
  62. Kaye, B. H. *Permeability Techniques for Characterizing Fine Powders*. *Powder Technol.* 1967, 1, 11—22.
  63. Kaye, B. H.; Legault, P. E. *Real-Time Permeability for the Monitoring of Fineparticle Systems*. *Powder Technol.* 1973, 23, 179—186.
  64. Orr, C. *Application of Mercury Penetration in Material Analysis*. *Powder Technol.* 1969—1970, 3, 117—123.
  65. Kaye, B. H. *Applied Fractal Geometry and the Fineparticle Specialist I. Rugged Boundaries and Rough Surfaces*. *Part. Part. Syst. Charact.* 1993, 10 (3), 99—110.
  66. Kaye, B. H. *Fractal Dimensions in Data Space; New Descriptors for Fineparticle Systems*. *Part. Part. Syst. Charact.* 1993, 10, 191—200.
  67. Standard powders are available from Duke Scientific Corporation, 135D San Antonio Rd. Palo Alto, CA 94303.
  68. Calibration Fineparticles are available from Dyno Particles A. S., P.O. Box 160N-2001, Lillestrom, Norway.
  69. Merkus, H. G.; Bischof, O.; Drescher, S.; Scarlett, B. *Precision and Accuracy in Particle Sizing. Round-Robin Results from Sedimentation, Laser Diffraction and Electrical Sensing Zone Using BCR 67 and 69*. In *Proceedings 6th European Symposium on Particle Characterization, PARTEC, Nurnberg, March 21—23, 1995*.
  70. Yamamoto, H.; Matsuyama, T. *Comparative Study of Particle Size Analyses Using Common Samples*. *KONA* 1995, 13, 57—66.
  71. Kaye, B. H.; Alliet, D.; Switzer, L.; Turbitt-Daoust, C. *The Effect of Shape on Intermethod Correlation of Techniques for Characterizing the Size Distribution of a Powder I. Correlating the Size Distribution Measured by Sieving, Image Analysis, and Diffractometer Method*. *Part. Part. Syst. Charact.* 1997, 14, 219—224.
  72. Kaye, B. H.; Alliet, D.; Switzer, L.; Turbitt-Daoust, C. *The Effect of Shape on Intermethod Correlation of Techniques for Characterizing the Size Distribution of a Powder II. Correlating the Size Distribution as Measured by Diffractometer Methods, TSI-Amherst Aerosol Spectrometer, and Coulter Counter*. *Part. Part. Syst. Charact.* 1999, 16, 266—272.

## K

## 可生物吸收聚合物

Shalaby W. Shalaby

Poly-Med, Inc., Pendleton, South Carolina, U. S. A.

## 引言

本章所论述的聚合物是目前及今后应用的能在预定时期内存在于生物组织中的聚合物。显然, 这些聚合物在生理环境下的物理存在必须是短暂的, 其理化性质应满足使用要求, 当它们发挥应有的功效后, 可以从应用部位被转运或清除掉。这种与组织接触的聚合物的转运或清除称为生物吸收。因此, 所谓的可生物吸收聚合物是指所有易消逝的聚合物材料而不论它们的化学类型、来源以及从使用部位被清除或吸收的方式。可生物吸收聚合物可以是天然的多糖、蛋白质、全合成的聚合物或天然和合成聚合物组成的混合物。它们可能通过下列几种途径从应用部位被转运: ①无论有无简单离子交换过程, 可溶聚合物都会随着扩散作用而被溶解; ②不溶性材料化学链的断裂和转变为适宜噬菌体吞噬的小颗粒或可溶性的链碎片而被代谢; ③不溶性聚合物被酶解为可溶性的部分。可生物吸收聚合物的主要类型以及可能的生物吸收方式将在下一部分进行讨论。此部分只提供一些关于可溶性或增溶性链型分子和不经共价键断裂即可转变为可溶性聚合物的可生物吸收材料的技术细节。本章随后讨论了通过解聚作用和链断裂方式被生物体吸收的一类重要聚合物, 以及新近被应用的可吸收凝胶型液体剂。整个这两部分有关可生物吸收聚合物应用的简要讨论, 都是关于聚合物的加工和应用。

## 可生物吸收聚合物的主要类型及可能的生物吸收方式

链型分子的化学结构是决定生物吸收方式的主要因素。约 20 年前, 大多数生物吸收聚合物是天然聚合物及其衍生

物。和天然材料相比, 合成的可生物吸收聚合物因具有组织反应相对较低和更可预见的体内外特性, 而自 20 世纪 70 年代早期起人们对其关注不断提升。可生物吸收聚合物可分为三大类: 可溶型的、增溶型的和可解聚型的。这些可生物吸收聚合物的结构特征和可能的生物吸收方式概括如下。

## 1. 可溶型聚合物

可溶性链型分子通常是水溶性的、天然的、改性天然或合成的材料。这些聚合物具有氢键或极性基团, 决定了聚合物在生理环境中的转运和水溶性。聚合物的溶解性在很大程度上依赖于极性基团(羟基、羧基、酰胺基、氨基)的类型和其在链中的位置(如是主链还是侧链)。相对分子质量<sup>[1]</sup>和聚合物链的支化也对溶解度起决定作用。水溶性聚合物和极性基团的类型见表 1 和表 2。

表 1 水溶性聚合物中极性基团的类型

极性基团	天然聚合物	改性天然聚合物	合成的聚合物
—OH	右旋糖酐、藻酸	羟乙基纤维素、羟丙基纤维素	聚乙烯醇、聚羟乙基丙烯酸甲酯、低相对分子质量聚环氧乙烷
—C—O—C—	右旋糖酐	羟乙基纤维素、羟丙基纤维素	聚环氧乙烷和环氧乙烷-环氧丙烷共聚物
—COOH	藻酸	羧甲基纤维素	聚丙烯酸
—CO—NH <sub>2</sub>			聚丙烯酰胺
—CO—NH—		明胶	聚赖氨酸
—C—NH <sub>2</sub>			聚赖氨酸

表 2 典型水溶性聚合物的结构特征

名称	聚合物的分类或来源	增溶基团	其他特性
右旋糖酐 (DXT)	天然多糖; 微生物的发酵产物	—C—O—C— —C—OH	取代的吡喃糖序列
羧甲基纤维素及其碱金属盐 (CMC)	羧基化纤维素	—C—O—CH <sub>2</sub> COOH —C—O—C—	取代的吡喃糖序列
羟乙基纤维素 (HEC)	乙氧基化纤维素	—C—O—CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH —C—O—C—	取代的吡喃糖序列
羟丙基纤维素 (HPC)	丙氧基化纤维素	—C—O—CH <sub>2</sub> —CHCH <sub>3</sub> —OH —C—O—C—	取代的吡喃糖序列

续表

名 称	聚合物的分类或来源	增溶基团	其他特性
羟丙甲基纤维素 (HPMC)	甲基化 HPC	和 HPC 类似	取代的吡喃糖序列
聚 $\beta$ -羟乙甲基丙烯酸酯 (PHEMA)	合成的, 直接聚合	$-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	取代的聚乙烯链
聚乙烯醇 (PVA)	合成的, 聚乙酸乙烯酯的水解产物	$\text{CH}-\text{OH}$	取代的聚乙烯链
聚丙烯酰胺 (PA)	合成的, 直接聚合	$-\text{CONH}_2$	取代的聚乙烯链
聚丙烯酸及其碱金属盐 (PAA)	合成的, 直接聚合	$-\text{COOH}$ , $-\text{COO}-\text{Na}^+$ , $-\text{COO}-\text{K}^+$	取代的聚乙烯链
聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)	合成的, 直接聚合	$-\text{CO}-\text{NH}-$	取代的聚乙烯链
聚环氧乙烷 (PEO 或 PEG)	合成聚醚, 通过环氧乙烷的酰化	$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ $-\text{CH}_2-\text{OH}$	低相对分子质量和中等相对分子质量, 链末端有两个羟基
环氧乙烷-环氧丙烷共聚物 (PEO-PPO)	环氧乙烷-环氧丙烷嵌段共聚物	$-\text{CH}_2-\text{OCHCH}_3-$ , $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ $-\text{CH}_2\text{OH}$ , $-\text{CHCH}_3-\text{OH}$	依据相对分子质量, 链末端最多有两个羟基
直链淀粉 (可溶性淀粉)	天然的, 线性结构的淀粉	$-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ , $-\text{C}-\text{OH}$	取代的吡喃糖序列
海藻酸及其碱金属盐	天然的, 从海藻里提取的多糖	$-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ , $-\text{C}-\text{COOH}$ , $-\text{C}-\text{OH}$	<i>d</i> -甘露糖醛酸的取代吡喃糖序列
聚赖氨酸	合成的	$-\text{CO}-\text{NH}-$ , $-\text{C}-\text{NH}_2$	碱性多肽
透明质酸	天然的多糖 (公鸡的鸡冠里), 微生物的发酵产物	$-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ , $-\text{C}-\text{OH}$ , $-\text{C}-\text{NHCO}-$ $\text{CH}_3$ , $-\text{COOH}$	乙酰氨基葡萄糖和葡萄糖醛酸的取代吡喃糖序列

某些重要的水溶性聚合物是多糖类。Franz<sup>[2]</sup>曾在一篇有关药剂处方中的多糖综述中讨论了水溶性多糖。因其在工业生产中的重要性, 这些多糖的主要特性和典型的应用见表 3。此外, 表 3 指出由纤维素的氧化物 (16%~24%的

羟基转化为羧基) 生产的氧化纤维素是一种纤维状白色粉末, 它被用作可生物吸收的止血剂。这种生物吸收作用可能是由于羧化部分的增溶作用造成的。

表 3 可溶性多糖: 主要特征和典型的应用

多 糖	结构特征	来源和性质	应 用
$\beta$ -环糊精	$\beta$ 型有 7 个吡喃葡萄糖单元, $\alpha$ 型只有 6 个吡喃葡萄糖单元	来源于直链淀粉, 环状七个糖, 可以和药物形成包合物	包合物可以掩盖药物气味和味道
甲基纤维素	含有 6%~15% 甲氧基的甲基化纤维素	在 pH 2~12 时溶液是稳定的, 但溶液中有 $\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{PO}_4^{3-}$ 时会凝结或沉淀	眼用和烧伤用制剂, 滴鼻剂和油膏
邻苯二甲基醋酸纤维素	分别含有约 20% 乙酸基和 35% 邻苯二甲酸基的酯化纤维素	游离酸形式溶解在有机溶剂中, 碱金属盐溶于水	片剂包衣, 在胃中不溶, 溶于肠液
羧甲基纤维素	通常制成纤维素的聚羧甲基醚的羧酸盐	游离酸或其钠盐的分散体在 pH 2~10 范围内是稳定的	增稠剂和片剂辅料
阿拉伯胶	结构相近多糖的混合物, 主要是 $\beta$ -D-吡喃半乳糖残基	天然植物分泌液在 pH 2~7 范围内是稳定的, 并呈现出相对低的黏性	乳化剂和助悬剂, 在片剂中作为黏合剂
黄蓍糖	含有一些半乳糖醛酸残基的多糖复杂混合物	植物来源的天然西黄蓍胶的可溶性组分	在片剂中作黏合剂, 镇痛剂
胶质	由部分甲氧基取代的 1, 4-聚半乳糖醛酸组成	在 pH 3 时胶质形成热可逆性凝胶。它是从柑橘皮中提取的	助悬剂, 止泻剂

续表

多 糖	结构特征	来源和性质	应 用
海藻酸	由 $\beta$ -1,4-D-甘露糖醛酸和 L-葡萄糖醛酸结合成的线性聚合物	从褐藻中提取的, 其钠盐和非游离酸或钙盐溶于水	增稠剂, 乳化剂, 胶凝剂
琼脂	主要基于半乳糖序列	从红藻中提取	助悬剂或乳化剂, 外科用润滑剂, 片剂崩解剂
半乳甘露聚糖	主要由线性甘露糖链和半乳糖侧链组成	从某些种子的胚乳, 愈创树胶中得到	增稠剂, 片剂黏合剂
黄原胶	主要由线性葡萄糖链和由甘露糖和葡萄糖醛酸残基的侧链组成	用葡萄糖发酵制得的微生物胶, 为黏性假塑性溶液	乳化剂, 助悬剂, 特别用于牙膏和油膏中
右旋糖酐	多糖链主要由带有 $\alpha$ -1,6-和少量 $\alpha$ -1,2-和 1,3-或 1,4-葡聚糖单元形成高支链化的结构	细胞外细菌葡聚糖的一种, 上市的右旋糖酐相对分子质量为 40 000~110 000, 低相对分子质量的 (40 000) 据报道很容易被肾脏清除	补充血容量
透明质酸	由乙酰化氨基葡萄糖和葡萄糖醛酸序列组成 (部分被中和至溶解)	从公鸡的鸡冠里提取, 或来自微生物的发酵产物, 相对分子质量为 500 000~3 000 000	特殊的生物组织润滑剂

各种多糖和增塑剂的混合物常被用在制剂处方中, 尤其是控释中。由于它的应用价值, 很多研究者对多糖混合物的物理相容性进行了研究。Sakellariou 和他的同事们<sup>[3]</sup>用乙基纤维素和一些纤维素衍生物 (羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、邻苯二甲基醋酸纤维素) 及 PEG 6000 的混合物研究了聚合物间的相互作用。他们发现由于邻苯二甲酰基的存在, 羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯和邻苯二甲基醋酸纤维素具有初始相互作用和共分散的特性。

为了满足当代制剂技术的需要, 下面所概括的这些最新研究阐述了新型或经修饰的水溶性聚合物及混合物的重要性。在最近的学术交流中, McCormick 等<sup>[4]</sup>阐述了利用共聚作用修饰水溶性聚合物的方法。Dubin 和 Strauss<sup>[5,6]</sup>曾考察了烷基侧链对高分子电解质性质的影响。Pantar 和 Pao<sup>[7]</sup>对开发具有加快溶解速率的聚丙烯酰胺 (PAM) 有兴趣, 他们认为: ①当制备的聚合物中含有 PEG 200 和 PEG 400 时, 其溶解速率增加; ②不同的聚丙烯酰胺都吸收 PEG; ③随着相对分子质量的增加 PEG 的结合减少。Ross-Murphy 和 McEvoy<sup>[8]</sup>在其综述中强调了对于水溶性聚合物而言水凝胶的性质和胶凝作用是很重要的。大于 50kg 的聚丙烯酰胺在  $\gamma$  射线诱导下发生交联, 生成的水凝胶能吸收其质量 1000%~1500% 的水分<sup>[9]</sup>。Barbucci 等<sup>[10]</sup>以酰胺基和氨基为侧链合成新型聚合物, 并阐述了疏水性相互作用在聚合物物质化导致的增溶作用中的重要性。早期研究的由分子间复合物的形成引起的水溶性聚合物的缔合作用和不成对结构, 对今后的研究也具有重要意义<sup>[5,6,11~15]</sup>。

Drobnik 等<sup>[16]</sup>通过房室模型讨论了聚合物在机体内的药物动力学性质和跨膜行为, 总结了有关水溶性聚合物在生物体内处置过程的主要发现和理论。这种房室模型的机理和跨生物膜的机理有相似之处, 即认为血液循环是中央室, 只有通过中央室才能实现身体远端组织间的物质交换,

细胞内的物质交换是和体内所有细胞的大细胞内腔相联系的。作者详细讨论了参与物质交换的网状内皮系统细胞, 肾小管上皮细胞以及肝细胞。淋巴系统和小间隙被认为是水溶性合成聚合物在体内处置过程中的主要腔室。水溶性、内源性和外源性聚合物跨腔室屏障的途径包括经内皮通路, 转运到淋巴系统, 肾小球过滤, 肾小管的分泌, 肠内转运以及胆汁转运。在腔室屏障转运的讨论中, 他们认为水溶性聚合物不可能在不破坏脂蛋白膜完整性和不造成细胞表面缺陷的情况下通过扩散穿过脂蛋白膜, 这些缺点是由于高分子电解质和较高的聚乙二醇浓度造成的。另外, 聚合物通过生物膜一般是靠膜的内吞实现的, 也就是膜向内凹陷形成小泡并从膜上分离, 大分子进入细胞被封闭在囊泡里的过程被称为内吞作用, 在囊泡里还含有一些细胞外液。作者认为囊泡转运好像是合成聚合物克服脂蛋白膜屏障的唯一方法。Drobnik 等<sup>[16]</sup>也讨论了聚合物在细胞中储存和通过呼吸系统排泄的机理。尽管他们强调内吞作用在大分子跨膜转运中的作用, 但相对分子质量小于 20 000 的可溶性聚合物的被动扩散作用仍不能排除。本节讨论的聚合物在机体内或多或少会发生一些变化, 这种变化包括对聚合物转运方式、吸收和最终从机体内排泄方式影响很小的结构修饰。链修饰可能是和水解反应、氧化过程和 (或) 结合作用 (常通过酯化作用、酰化作用或烃化作用) 有关的, 但并不希望在链相对分子质量或溶解性上产生较大的变化。

## 2. 增溶型聚合物

第二类生物可吸收聚合物是增溶性大分子, 也就是表 2、表 3 中所提到水溶性聚合物的衍生物, 可以认为是可降解聚合物的一个亚族 (表 4)。这些增溶性大分子是合成的主链上带有羧基或磺酸基的不溶性钙盐或镁盐, 在机体内通过和碱金属盐发生阳离子交换而溶解。从这点上看, 这些可生物吸收聚合物的生物吸收方式和前面所提到的水溶

性聚合物是相同的。此外,从概念上讲增溶性聚合物可能是一种合成的不溶性大分子,经过有限的内链或侧链的断裂产生水溶性的低相对分子质量的片段。例如,聚醚酯是一种聚乙二醇与羟乙酸和(或)脂肪二酸的共聚物,经水解后形成聚乙二醇和低相对分子质量的聚酯片段,这些片

段进一步水解成水溶性单体。聚甲基氰基丙烯酸酯的生物吸收性也可部分归结于聚乙烯链上的酯基和(或)氰基的水解形成水溶性聚合物。对于本身具有水溶性的聚合物来说,从机体内被转运和消除得更早。

表4 可溶性的可降解聚合物

名 称	聚合物分类或来源	增溶基团	其他特性
透明质酸(HA)及其碱金属盐	来源于公鸡鸡冠的天然多糖或者发酵产物	C—O—C —C—COOH —C—NH—CO—CH <sub>3</sub> —C—OH	乙酰氨基葡萄糖和葡萄糖醛酸的取代吡喃糖序列
果胶及其碱金属盐	来源于柑橘的天然多糖	—C—O—C —C—COOH —C—OH	半乳糖醛酸的取代吡喃糖序列
明胶	胶原质的水解产物(天然聚合物)	绝大部分为—CO—NH—	主要由甘氨酸、脯氨酸及羟基脯氨酸组成
鱼精蛋白硫酸盐	来源于鱼卵的天然聚合物	—CONH— NH—C—NH <sub>2</sub>    NH	主要由精氨酸组成的、碱性的、低相对分子质量的蛋白质

### 3. 可解聚的聚合物

第三类可生物吸收聚合物是在机体内可解聚成简单有机化合物的聚合物链。解聚作用可通过酶催化或化学诱导,使聚合物的链发生断裂。例如,胶原质和聚羟乙酸分别是通过酶催化和化学诱导使之解聚的。大多数通过酶催化降解的聚合物(或称为简单降解聚合物)分子链一般是天然存在的,如胶原质及其发酵产物,其中有一个是聚羟基丁酸酯(PHB)<sup>[17]</sup>。此外,酶解的聚合物可以是水溶性的(如明胶、果胶、透明质酸和鱼精蛋白硫酸盐),也可以是水不溶性的(例如,胶原质)。表4所列的是水溶性可解聚聚合物。根据水溶性聚合物的相对分子质量不同,低相对分子质量和高相对分子质量的聚合物分别采用被动扩散和内吞方式(胞饮)

通过生物膜。然而,大多数情况下水溶性聚合物经酶催化反应后,链降解成基本的单体,然后再进一步代谢或直接排泄。水不溶性可解聚聚合物主要有三种天然存在的聚合物及衍生物。最常见的水不溶性可降解聚合物是天然的蛋白质,如胶原质及其衍生物(用过渡金属形成复合结构,如铬离子)。胶原质被胶原酶降解成可溶性的低分子或单体,它们直接被排泄或进一步被代谢为氨水和二氧化碳。壳多糖是一种多糖,其脱乙酰基衍生物是脱乙酰壳多糖,它们是不溶性酶可解聚聚合物的第二种重要类型。聚羟基丁酸酯及羟基丁酸和羟基戊酸共聚物是微生物发酵产物属于第三类——相对较新的水不溶性酶解聚合物(表5)。为了使不溶性多糖和聚酯材料跨生物膜转运,它们可能首先经酶降解为水溶性低分子物质或单体。

表5 天然酶解水不溶性聚合物的典型例子

聚合物	聚合物分类或来源	备 注
胶原质	一种蛋白质,是连接组织和骨骼有机组成的主要成分	甘氨酸(33%)和脯氨酸(13%)的含量高,还含有羟脯氨酸(10%)和罕见的羟赖氨酸(10%)
壳多糖	从蟹壳中得到的一种天然多糖	链是由乙酰氨基葡萄糖结构单元组成,这种天然的聚合物经部分脱乙酰基化转变为酸溶性的脱乙酰壳多糖
聚羟基丁酸酯及其共聚物	3-羟基丁酸(HB)的脂肪族聚酯及HB与3-羟基戊酸(HV)的共聚物	通过发酵制得;多数聚合物是结晶性热塑性膜和纤维状材料,溶于某些有机溶剂中

## 合成的生物可吸收聚合物

直到20世纪60年代后期,以胶原质为基质的外科产

品(主要是缝合线)仍占据着可吸收聚合物的市场。然而,这些天然来源的产品具有一些不良性质,这促使医学界开发具有良好性能的合成可吸收聚合物。在过去的20年里,4种主要的合成生物可吸收聚合物以手术缝合线和同类的

手术器材的形式进入临床。它们是聚乙交酯 (polyglycolide, 缩写为 PGA); 90:10 的聚 L-丙交酯-乙交酯共聚物 [90/10 poly (*l*-lactide-co-glycolide), 缩写为 90:10PLG]、聚对二氧环己酮 (poly-*p*-dioxanone, 缩写为 PDS)、聚碳酸丙二酯和乙交酯共聚物<sup>[18~20]</sup>。丙交酯-乙交酯共聚物的其他组成形式及其混合物已被制成可吸收的钉子<sup>[21,22]</sup>。尽管研究人员已对很多种聚丙交酯进行了深入研究, 包括光学纯的聚 L-丙交酯, 但作为实用的卫生保健商品在市场上很少<sup>[23,24]</sup>, 这些聚合物的主要潜在用途可能是在促进骨骼生长方面。一些学者研究了丙交酯-乙交酯系统和 PDS 的降解<sup>[18,25~27]</sup>, 认为化学催化降解导致这些聚合物的生物吸收, 但也有一些人认为乙交酯-丙交酯共聚物<sup>[28,29]</sup>和聚己内酯<sup>[30]</sup>是通过酶降解的。

技术文献和专利文献描述了一些合成的可生物吸收聚合物, 它们不同于那些通常由乙交酯、丙交酯或对二氧环己酮制成的聚合物<sup>[18,31~34]</sup>。这些聚合物主要是聚草酸酯类 (polyoxalates)<sup>[18,33,34]</sup>、聚 2-氰基丙烯酸酯类 (poly (carboxyalkyl 2-cyanoacrylates))<sup>[35]</sup>、聚酐类 (polyanhydrides)<sup>[36,37]</sup>和可吸收的有机金属聚合物或无机聚合物, 如聚磷腈类 (polyphosphazenes)<sup>[38]</sup>和在可吸收有机基质中的磷酸盐玻璃复合物<sup>[39]</sup>。根据聚合物的化学结构、相对分子质量和形状, 不同类型的聚草酸亚烷基二酯类和同形的草酸共聚物类 (基于 1,6-己二醇和反式 1,4-环己烷二甲醇) 并制成特定形状的可生物吸收材料<sup>[33,34]</sup>, 已申请专利。这些聚合物由于作为许多实用的手术植入剂 (包括缝合线)

和表面润滑剂产品而被大家认知。Leong 和他的同事合成了聚酐, 如聚三亚甲基-二对氧苯甲酸酐 (poly (trimethylene-bis-*p*-oxybenzoic anhydride))、聚对苯二甲酸酐 (poly (terephthalic anhydride)) 以及和聚癸二酸酐 (poly (sebacic anhydride)) 的共聚物, 并对其降解进行了研究<sup>[36]</sup>。这些聚合物无毒性和无致突变性<sup>[37]</sup>。其他一些可生物吸收的聚合物有聚丙二酸丙二酯 (polytrimethylene malonate) 和对二氧环己酮 (*p*-dioxanone) 的共聚物类<sup>[40]</sup>、聚草氨酸亚烷基二酯类 (polyalkylene oxamates)<sup>[34]</sup>、聚酰胺酯类 (polyesteramides)<sup>[41]</sup>、聚苹果酸内酯类 (poly-*p*-malolactone)<sup>[42]</sup>、*dl*-丙交酯和环氧乙烷共聚物类 (copolymers of *dl*-lactide and ethylene oxide)<sup>[43]</sup>、取代羟基乙酸和甘氨酸的共聚物类 (copolymers of substituted glycolic acid and glycine)<sup>[44]</sup>以及聚原酸酯类 (polyorthoesters)<sup>[45]</sup>。Shalaby 及其合作者已成功地对合成的生物可吸收聚合物的性质进行修饰, 得到所期望的特性<sup>[18,46,47]</sup>。为了增加聚对二氧环己烷 (poly-*p*-dioxane) 的生物吸收作用, 在聚合物主链上引入少量吗啉二酮母体的共二聚体片段<sup>[48]</sup>。为了改善聚乙交酯和聚对二氧环己酮的辐射稳定性, 将这些聚合物与以苯二羧酸或羧甲基化对羟基苯甲酸为母体的聚酯制备成共聚物和 (或) 热熔混合物, 并作为可辐射灭菌的外科手术用品上市<sup>[46,47,49~52]</sup>。合成的生物可吸收聚合物的典型例子及主要特性和 (或) 应用见表 6。下面介绍新近开发的可吸收凝胶型聚合物。

表 6 水不溶性化学降解聚合物的典型实例

分 类	具体实例	主要性质和 (或) 应用 <sup>1)</sup>
聚 2-羟基酸类 及共聚物类	聚乙交酯 (polyglycolic acid, PGA)	A, B, F, G
	10/90 <i>l</i> -丙交酯/乙交酯共聚物 (10/90 <i>l</i> -lactide/glycolide copolymer, 910 polyglactin)	A, B, F
	聚 <i>l</i> -丙交酯 (poly- <i>l</i> -lactide)	A, B, C, D, F, G
	乙交酯/ $\epsilon$ -己内酯共聚物 (glycolide/ $\epsilon$ -caprolactone copolymer)	A, B, G, H, I
	乙交酯/1, 5-二噁庚烷-2-酮共聚物 (glycolide/1, 5-dioxepan-2-one copolymer)	A, B, G, H, I
	乙交酯/环丙烷碳酸酯共聚物 (glycolide/trimethylene carbonate copolymer)	A, B, F, G
	乙交酯和聚对苯二羧酸乙二酯共聚物 (copolymers of glycolide and polyethylene- <i>p</i> -phenylene diglycolate)	A, B, G, J
聚对二氧环己 酮及其共聚物	聚对二氧环己酮 (poly- <i>p</i> -dioxanone, PDS)	A, B, F, G
	PDS 和 <i>l</i> -丙交酯的共聚物 (copolymers of PDS and <i>l</i> -lactide)	A, B, G
	PDS 和乙交酯的共聚物 (copolymers of PDS and glycolide)	A, B, G
	对二氧环己酮和吗啉-2,5-二酮共聚物 (poly- <i>p</i> -dioxanone-co-morpholine-2,5-dione)	A, B, G
	对二氧环己酮和聚对苯二羧酸乙二酯共聚物 (copolymers of <i>p</i> -dioxanone and polyethylene- <i>p</i> -phenylene diglycolate)	A, B, G, J
	对二氧环己酮和聚丙二酸丙二酯共聚物 (copolymers of polytrimethylene malonate and <i>p</i> -dioxanone)	A, B, G, H
聚草酸亚烷基 二酯类	4~16 个碳的聚酯及共聚物 (polyesters of C4 to C16 and copolymers)	A, B, C, D, E, G, H, I
	同形的环二醇和脂环二醇的草酸共聚物 (isomorphic copolyoxalate of cyclic and alicyclic diols)	A, B, C, D, G
聚酰胺酯类	基于 $\beta$ -羟基-1-己醇的聚草氨酸亚烷基二酯 (polyalkylene oxamate based on $\beta$ -hydroxy-1-hexanol)	A, B, G

续表

分 类	具体实例	主要性质和（或）应用 <sup>1)</sup>
聚酯类	癸二酸和二-(4-羟基苯甲酸)-1, 3-丙烷的共聚酸酐 (copolyanhydrides of sebacic and 1, 3-propane-bis-(4-oxybenzoate))	C, H

1) A. 热塑性结晶聚合物; B. 可热熔加工成纤维和薄膜; C. 可溶解在常用有机溶剂中; D. 通过溶液浸渍或铸造法成膜; E. 低熔点聚合物 (低于 100℃); F. 用作外科手术器材; G. 作为外科手术器材和同类器材的聚合物申请专利; H. 作为药物转运的有用基质; I. 作为表面涂层申请专利; J. 可用 γ 射线灭菌。

## 可吸收凝胶型聚合物及其在注射用载体上的应用

开发可吸收药用外科手术产品逐渐受到关注, 在生理环境中这些产品可降解, 且降解产物是安全的并在应用部位无残留<sup>[53~59]</sup>, 因此寻找新型的可吸收凝胶是可行的。在最近的研究中发现, 新型凝胶型聚合物是可吸收共聚物通过水合作用而形成的水凝胶, 这种水凝胶通过疏水性聚酯组分以共价键的形式和亲水性组分连接形成伪交联而使其稳定, 亲水性组分是药用的聚合物, 如聚氧乙烯<sup>[60]</sup>。疏水性聚酯组分是由安全的单体制得, 如对二氧环己酮、ε-己内酯、乙交酯、丙交酯及其混合物。比较有关研究后发现, 新型水凝胶型聚合物不需要使用溶剂, 而传统的是将聚合物溶解在有机溶剂中 (如 N-甲基-2-吡咯烷), 在生物体内聚凝形成生物可降解多微孔固体植入剂<sup>[61]</sup>, 这类低分子有机溶剂在从应用部位转移出来的时候会引起生物组织的损伤, 如细胞的脱水和坏死。另外同样值得注意的一点是, 以前所认识的植入体系是固体的, 由于固体的物理形态可能引起机体的不适, 因此患者会感到不舒服, 而新型的水凝胶具有较好依从性、溶胀性和机械相容性<sup>[60]</sup>。

在制药和生物医学行业, 可吸收凝胶型聚合物的使用可能会成为可吸收聚合物中最重要的应用。近来在这方面的应用主要是以下几点: ①抗生素在牙周病中的应用; ②抗生素在骨髓炎方面的应用; ③眼内给药; ④伤口愈合和止血; ⑤胰岛素的控制释放; ⑥蓖麻蛋白 A 链生物利用度的控制; ⑦作为缝合辅药修补伤口; ⑧改良的可吸收组织黏合剂; ⑨米索前列醇的阴道控释; ⑩毛细血管移植的闭合。以下讨论这些应用。

### 1. 应用于牙周炎

采用可注射形成凝胶的制剂进行四环素或强力霉素等抗生素的控释给药, 用于牙周炎治疗, 疗效长达 1~4 周<sup>[60]</sup>。

### 2. 用于骨感染的抗生素制剂

在治疗骨髓炎的美国国家卫生研究院小企业创新研究 (NIH-SBIR) 项目中, I 期临床研究 (Phase I) 的结果表明<sup>[62]</sup>: ①经筛选的凝胶型聚合物可以使庆大霉素和万古霉素在体外持续释药至少两周; ②就临床上万古霉素相应剂量而言, 两种凝胶型聚合物可以制成可注射形式; ③在山羊胫骨骨髓周围注射这种万古霉素制剂以供局部给药;

④可以控制万古霉素制剂的药物释放而不产生毒性血药浓度。

### 3. 可注射的眼内给药系统

在美国国防部 (DOD) 资助的一项小企业创新研究项目中, I 期临床 (Phase I) 正在对用特制凝胶型聚合物开发的眼内注射控释给药系统的可行性进行研究。研究结果表明:

- 按临床相应剂量, 毛果芸香碱、萘普生、环孢素和更昔洛韦可被制成可注射的凝胶;
- 在缓冲介质中可以持续释药至少一周;
- 四种药物的活性制剂和安慰剂, 可以容易地注射到兔眼睛的玻璃体内, 而不会引起无法挽回的严重组织反应。

### 4. 用于烧伤伤口的愈合及止血

美国国防部 (DOD) 资助的一项对裸鼠和无毛家兔进行伤口愈合剂和止血剂的初步研究表明:

- 在裸鼠割伤伤口和烧伤伤口上, 某些凝胶型制剂可控制抗生素的输送;
- 使用安慰凝胶剂时, 裸鼠的割伤伤口修复也可得到改善;
- 在家兔的动物模型上, 经筛选的凝胶型制剂有止血作用。

### 5. 胰岛素的控释系统

对于胰岛素控释的某些凝胶型聚合物的初步研究表明, 凝胶型胰岛素给药系统是可行的<sup>[63]</sup>。

### 6. 控制蓖麻蛋白 A 链和其他疫苗的释放

这是受美国国防部 (DOD) 资助的一项小企业创新研究的前期研究项目。这项研究的结果和相应结论总结如下<sup>[64]</sup>。通过皮下注射给药, 结果证明:

- 凝胶制剂容易制备且适合工业化生产;
- 一个剂量的皮下注射凝胶剂可以释放足量的蓖麻蛋白 A 链, 产生 IgG 使其在 4~6 周的时间内起到免疫保护作用;
- 一个剂量免疫后至少可以维持 6 周;
- 在 IgG 的形成和聚合物载体的组成之间具有相关性。

前期研究结果不仅得到了以上结论, 而且提出了以下几点:

K

• 当一个单剂量、可吸收的皮下注射剂由阳离子交换型微粒组成, GF-II 可能在体内具有独特的性能;

• 比较上市的 RAC 溶液 (RAC-L) 和 GF-II, 发现后者产生抗体比较缓慢, 10 个星期达峰, 相对早期免疫反应较强但衰退快的 RAC-L 而言, 它更具优越性;

• 根据抗体反应, GF-II 可维持超过 10~20 周的免疫活性;

• 在 6 周内, GF-II 比 RAC-L 产生更高的 IgG-2A 免疫反应。

## 7. 皮肤创伤的修复

在使用缝合线或肘钉修复大鼠皮肤创伤的研究中, 发现用凝胶型聚合物覆盖伤口可以使缝合针数或钉数减少一半, 并尽可能使留下的疤痕较小。

## 8. 组织黏合剂

将某些凝胶型聚合物加到氰基丙烯酸甲氧丙酯中, 会产生一系列的黏合剂, 它们有以下两种用途:

• 在皮肤创伤修复中用作缝合线和肘钉;

• 在胃肠道的某些损伤处, 用组织黏合剂黏附在弹性蛋白基质上的贴片修复创伤。

## 9. 米索前列醇的阴道控释

在最近建立的一个促使子宫颈成熟的动物模型研究中发现, 凝胶型聚合物是米索前列醇缓释的有效载体。

## 10. 毛细血管移植的闭合

对扩张的 Teflon® 血管移植最新初步研究结果表明, 某些凝胶型聚合物可以用于多微孔植入的封闭剂, 同时也能作为生物活性成分的缓释载体, 以延长移植的不闭合。

## 参考文献

- Molyneux, P. Br. Polym. J. 1986, 18 (32) .
- Franz, G. Adv. Polym. Sci. 1986, 76 (3) .
- Sakellariou, P.; Rowe, R. C.; White, E. E. T. Inter. J. Pharm. 1986, 34 (93) .
- McCormick, C. L.; Blackman, K. P.; Elliott, D. L. Angew. Makromol. Chem. 1986, 144 (87) .
- Dubin, P. L.; Strauss, U. P. J. Phys. Chem. 1973, 77 (1427) .
- Dubin, E. L.; Strauss, U. E. Hypercoiling in Hydrophobic Polyacids. Polyelectrolytes and Their Applications; Rembaum, A., Selegny, E., Eds.; D. Reidel Pub. Co.: Holland, 1975; 3.
- Pantar, A. V.; Rao, V. M. R. Makromol. Chem., Rapid Commun. 1986, 7 (77) .
- Ross-Murphy, S. B.; McEvoy, H. Br. Polym. J. 1986, 18 (2) .
- Burfillo, S. G.; Ogawa, T. J. Appl. Polym. Sci. 1986, 32 (3783) .
- Barbucci, R.; Casolaro, M.; Nocentini, M.; Reginato, G. Makromol. Chem. 1986, 187 (1953) .
- Kataoka, K.; Tsuruta, T. Makromol. Chem. 1980, 181 (1363) .
- Salamone, J. C.; Mahmud, N. A.; Mahmud, M. U.; Nagabhushanam, T.; Watterson, A. C. Polymer 1982, 23 (843) .
- Tsuchida, E.; Abe, K. Adv. Polym. Sci. 1982, 45 (1) .
- Abe, K.; Senoh, S. J. Polym. Sci. Part A; Polym. Chem. 1986, 24 (3461) .
- Saito, S. Coll. Surf. 1986, 19 (351) .
- Drobnik, J.; Rypáček, E. Adv. Polym. Sci. 1984, 57 (1) .
- Miller, N. D.; Williams, D. E. Biomaterials 1987, 8 (129) .
- Shalaby, S. W. Fibrous Materials for Biomedical Applications. High Technology Fibers; Lewin, M., Preston, J., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1985; Ch. 3.
- Doddi, N.; Versfelt, C. C.; Wasserman, D. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4, 052, 988, 1980.
- Katz, A. R.; Mukherjee, D. P.; Kaganov, A. L.; Gordon, S. Surg. Gynecol. Obstet. 1985, 161 (216) .
- Adzick, N. S.; Harrison, M. R.; Flake, A. W.; Glick, P. L.; Bottles, K. Surg. Forum 1985, 36 (479) .
- Steckel, R. R.; Jann, H. W.; Kaplan, D.; Jakowski, R. M. Obstet. Gynecol. 1986, 68 (40) .
- Leenslag, J. W.; Gogolewski, S.; Pennings, A. J. J. Appl. Polym. Sci. 1984, 29 (2829) .
- Leenslag, J. W.; Pennings, A. J.; Bos, R. R. M.; Rozema, E. R.; Boering, G. Biomaterials 1987, 8 (70) .
- Tune, D. C.; Rohovsky, M. W.; Jadhav, B.; Lehman, W. B.; Strongwater, A.; Kummer, E. Proceed. A. C. S. Div. Polym. Mater. Sci. Eng. 1986, 53 (502) .
- Gupta, M. C.; Deshmukh, V. G. Polymer 1983, 24 (827) .
- Chu, C. C.; Louie, M. J. Appl. Polym. Sci. 1985, 30 (3133) .
- Pitt, C. G.; Gu, Z. W. J. Controlled Release 1987, 4 (283) .
- Williams, D. E.; Chu, C. C. J. Biomed. Mater. Res. 1983, 17 (1029) .
- Vainionpää, S.; Kilpikari, J.; Liahio, J.; Helevirta, P.; Rokkanen, P.; Tormala, P. Biomaterials 1987, 8 (46) .
- Pitt, C. G.; Hendren, R. W.; Schindler, A. J. Controlled Release 1984, 1 (3) .
- Devi, K. S.; Vasudevan, E. J. Macromol. Sci. Rev.



- Macromol. Chem. Phys. 1985, c-25 (315) .
33. Devi, K. S.; Sinha, J. M.; Vasudevan, P. Biomaterials 1986, 7 (193) .
  34. Shalaby, S. W.; Jamiolkowski, D. D. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,140,678; 4,141,087, 1979.
  35. Shalaby, S. W.; Jamiolkowski, D. D. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,205,399; 4,226,243, 1980.
  36. Kronenthal, R. L.; Schipper, E. US Patent (to ETHICON, Inc.) 3,995,641, 1976.
  37. Leong, K. W.; Brott, B. C.; Langer, R. J. Biomed. Mater. Res. 1985, 19 (194) .
  38. Leong, K. W.; Amore, P. D.; Marietta, M.; Langer, R. J. Biomed. Mater. Res. 1986, 20 (51) .
  39. Allcock, H. R. Macromol. Chem., Macromol. Symp. 1986, 6 (101) .
  40. Kronenthal, R. L. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,612,923, 1985.
  41. Koelmel, D. E.; Shalaby, S. W. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,559,945, 1985.
  42. Barrows, T. H.; Grussing, D. M.; Hegdahl, D. W. Trans. Soc. Biomater. 1983, 6 (109) .
  43. Lenz, R. W.; Vert, M. US Patent 4,265,247, 1981.
  44. Zhu, K. J.; Xiangzhou, L.; Shilin, Y. J. Polym. Sci., Part C, Polym. Lett. 1986, 24 (331) .
  45. Goodman, M.; Kirshenbaum, G. S. US Patent (to Suture, Inc.) 3,773,737, 1973.
  46. Choi, N. S. U. S. Pat. 4,093,709, 1978.
  47. Bezwada, R. S.; Shalaby, S. W.; Kafrawy, A. Newman, H. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,643,191, 1987.
  48. Bezwada, R. S.; Shalaby, S. W.; Newman, H. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,653,497, 1987.
  49. Shalaby, S. W.; Koelmel, D. E. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,441,496, 1984.
  50. Bezwada, R. S.; Shalaby, S. W.; Jamiolkowski, D. D. US Pat. (to ETHICON, Inc.) 4,510,295, 1985.
  51. Koelmel, D. E.; Jamiolkowski, D. D.; Shalaby, S. W. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,546,152, 1985.
  52. Koelmel, D. E.; Jamiolkowski, D. D.; Shalaby, S. W.; Bezwada, R. S. US Patent (to ETHICON, Inc.) 4,649,921, 1987.
  53. Shalaby, S. W.; Jamiolkowski, D. D. US Pat. (to ETHICON, Inc.) 4,435,590, 1984.
  54. Shalaby, S. W.; Thermoreversible Gels. Water-Soluble Polymers; ACS Symp. Ser. American Chemical Society; Washington, DC, 1991; 467, Ch. 33.
  55. Shalaby, S. W. Polym. News 1991, 16 (238) .
  56. Shalaby, S. W. J. Appl. Biomater. 1992, 3 (73) .
  57. Shalaby, S. W., Ed. Biomedical Polymers; Design to Degrade Systems : Hanser Publ.; New York, 1994.
  58. Shalaby, S. W. et al. Polymers of Biological & Biomedical Significance; ACS Symp. Ser. American Chemical Society; Washington DC, 1994; 540.
  59. Shalaby, S. W. et al. Irish Patent (to Kinerton, Ltd.) S-61251, 1994.
  60. Shalaby, S. W. Indian J. Tech. 1993, 31 (464) .
  61. Shalaby, S. W. US Patent (to Poly-Med, Inc.) 5,610,052, 1997.
  62. Dunn, R. L. et al. US Patent 4, 938, 763, 1990.
  63. Corbett, J. T. et al. Trans. Soc. Biom. 1998, 21 (341) .
  64. Corbett, J. T. Poly-Med. Internal Report, 1996.
  65. Corbett, J. T. et al. Trans. Soc. Biom. 1997, 20 (362) .

(栾瀚森 译)

## K

## 口服固体制剂的薄膜包衣

Linda A. Felton

University of New Mexico College of Pharmacy, Albuquerque, New Mexico, U. S. A.

聚合物材料已广泛用于固体制剂的包衣,以达到美观、保护和功能性目的。聚合物薄膜包衣可以改善制剂产品的外观并使其易于识别。由于对环境储存条件具有一定的物理屏障作用,聚合物包衣可以提高制剂中药物的化学稳定性<sup>[1,2]</sup>。聚合物薄膜还可以通过提高制剂的硬度和韧性来增强固体制剂的物理稳定性<sup>[3]</sup>。在同一制剂内,也可以应用聚合物薄膜包衣而将易相互作用的成分隔离。聚合物薄膜包衣还用于掩盖药物的气味和味道<sup>[4]</sup>。此外,应用聚合物薄膜包衣的一个最常见原因就是它可以改变药物的释放特性<sup>[5~7]</sup>。本章主要讨论聚合物薄膜和薄膜包衣产品的处方研究、工艺流程及其测试评价。

## 成膜的基本原理

在制剂工业中,固体制剂的聚合物薄膜包衣通常是借助喷雾技术实现的。喷雾之前,聚合物一般要溶于或分散于水性或有机溶剂中。包衣开始前,固体芯通通常要在包衣设备中预热。这一预热步骤对于软胶囊的包衣尤为重要<sup>[8,9]</sup>。在到达底物表面前,包衣溶液或分散液在空气中雾化成为小液滴。接触后雾化的液滴散布于底物表面。溶剂将穿透芯,引起表面溶解和薄膜-片剂两相界面的物理混合<sup>[10]</sup>。当溶剂开始蒸发时,聚合物微粒就会密实地包裹在固体的表面上。图1为一个水溶性聚合物分散体的薄膜形成过程的示意图。当溶剂进一步蒸发时,由于聚合物球体间的内聚力,微粒会流动到一起,这一过程就是我们常说的聚结。通常包衣设备上附有加热装置以助溶剂的蒸发和薄膜形成<sup>[11]</sup>。

包衣过程完成后,包衣固体通常要立即存放在高于聚合物的玻璃化转变温度条件下,以进一步促进薄膜的聚结<sup>[6]</sup>,并且要确保增塑剂的均匀分散<sup>[12]</sup>。在包衣后储存或后处理阶段,聚合物的微结构发生了改变<sup>[13]</sup>,薄膜的力学性质、黏附性能<sup>[14]</sup>以及药物释放的性质<sup>[15,16]</sup>也受到了相应的影响。在不考虑进一步老化的情况下,获得一层稳定的薄膜所需的时间取决于如下几个因素:增塑剂的种类和浓度<sup>[17,18]</sup>、包衣过程中包衣床的温度<sup>[16]</sup>以及储存条件<sup>[11]</sup>。图2显示包衣后处理过程对丙烯酸聚合物包衣茶碱微丸中药物释放的影响<sup>[15]</sup>。由图2可见,随着储存温度的升高,药物的释放减慢,包衣液中增塑剂浓度提高,完成包衣膜聚结的时间缩短。

尽管大多数研究显示后处理过程会减缓药物释放,但Bodmeier和Paeratakul<sup>[13]</sup>发现后处理既有可能延迟也有可能加速药物的释放,这取决于后处理的条件、增塑剂浓度和

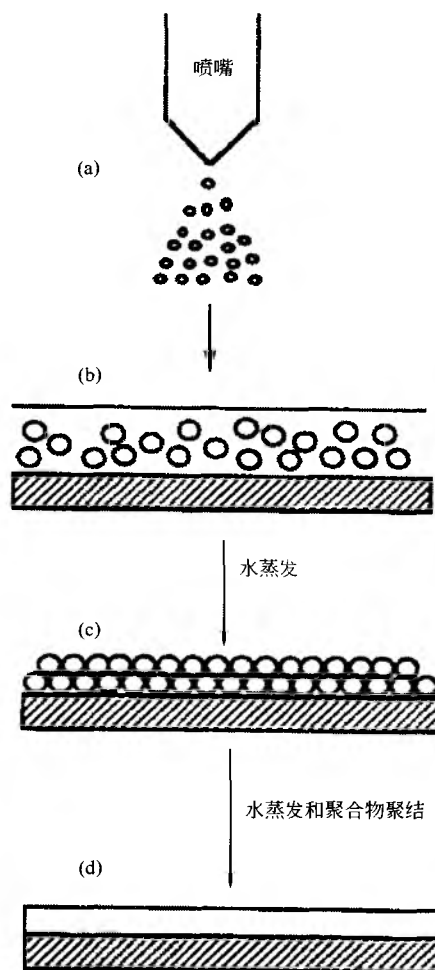


图1 聚合物水分散体薄膜形成的示意图。  
(a) 聚合物水分散体的喷雾; (b) 聚合物水分散体在底物表面的沉积; (c) 聚合物小球和水在空旷部位的填塞; (d) 连续聚合物膜的形成

药物的理化性质。该研究发现,马来酸氯苯那敏对乙基纤维素聚合物有较低的亲和性,而后处理延缓了药物的释放。相反的,布洛芬在乙基纤维素中有较高的溶解性,因而较长的后处理时间导致其较快的药物释放。后处理结束后,药物结晶出现在包衣微丸的表面,研究人员认为这是药物在薄膜中扩散的结果。为了使药物和纤维素聚合物之间的相互作用达到最小,建议增加内包衣层或中间隔离衣层。

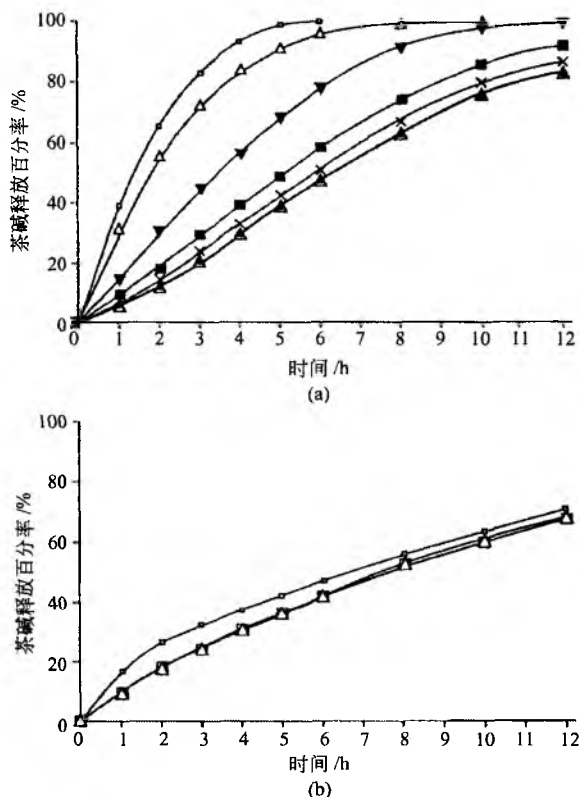


图2 茶碱微丸的药物释放变化。包衣材料为 Eudragit RS 30 D, 5%Pharmacoat 606 以及 (a) 20%柠檬酸三乙酯; (b) 30%柠檬酸三乙酯, 并放置 40℃/50%RH 中。对于 (a): (□) 初始; (△) 2h; (▼) 6h; (■) 24h; (×) 3d; (■) 7d; (▲) 10d。对于 (b): (□) 初始; (△) 3h; (■) 6h; (◆) 12h<sup>[15]</sup>

## 包衣设备

有三种包衣设备用于聚合物材料包衣: 传统包衣锅、多孔包衣锅和流化床。在其他文献中可以看到有关各种包衣设备的详细介绍<sup>[19~21]</sup>。传统包衣锅装置由一个围绕着倾斜轴转动的圆形包衣锅组成。随着包衣锅的转动, 里面的药片不断翻滚。同时不断有热风从翻滚的药片表面吹过, 然后排出。常规包衣锅最初用于包糖衣工艺。但是, 水溶性聚合物薄膜包衣要求溶剂蒸发得更快, 因而需要通过增加孔道来提高常规包衣锅的干燥效率。这些孔道可以使空气穿过片床。图3所示即为多孔包衣锅。对于传统包衣锅, 锅的旋转造成了包衣过程中固体核芯的不断运动。有效区是包衣锅中雾化的包衣液喷出后可以覆盖的物料表面的区域。药片必须多次通过有效区才能形成薄膜。多孔包衣锅中的挡板可以使药片翻滚起来从而有利于均匀包衣。

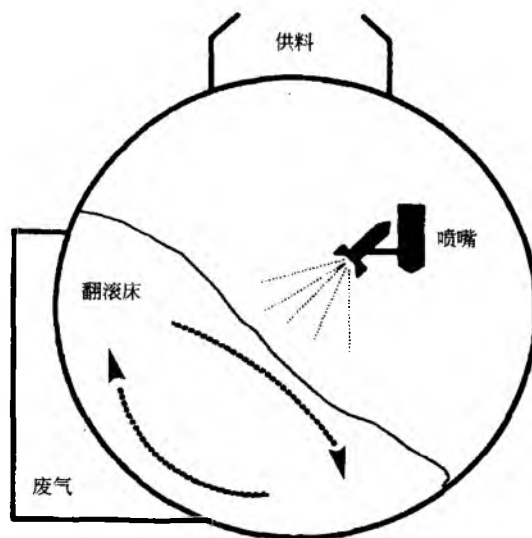


图3 多孔包衣锅示意图<sup>[19]</sup>

小粒径的物料如小珠、微丸、颗粒剂、粉末一般用流化床或空气悬浮法包衣。这两种方法都是利用载气使核芯运动起来的, 气流越大干燥效率越高<sup>[22]</sup>。流化床最常采用的是底喷技术, 见图4(a)。大量的空气从多孔底盘进入物料室并推动颗粒进入圆筒或圆锥包衣室的, 即所谓的 Wurster 衬垫。随着喷雾方式的发展, 这些衬垫现在已经得以改良, 使颗粒可以远离喷嘴<sup>[23]</sup>, 直到形成完整的喷雾。底喷方式可以提供理想的条件使薄膜完全聚结<sup>[24]</sup>。但是, 已经有证据表明颗粒的粒径会影响流化方式, 从而最终影响包衣膜的厚度<sup>[25]</sup>。

流化床包衣还有另外两种喷雾技术。如图4(b)所示的顶喷方式, 也就是造粒模式, 逆流将聚合物材料喷进处于流化状态的颗粒。由于顶喷的衣层厚度不均, 所以一般适用于需要掩味的制剂, 并且这种制剂的释药速率不应与薄膜的厚度相关<sup>[19]</sup>。旋转或切向喷雾技术, 如图4(c)所示, 在原有流化力及重力基础上, 又用旋转盘来引入离心力。尽管用这种方法形成的薄膜和用 Wurster 系统<sup>[23]</sup>形成的薄膜相似, 但是干燥效率提高了, 喷雾速率也随之提高了。已经证明切向喷雾系统的膜厚度与核芯粒径无关<sup>[25]</sup>。但是, 这种系统的一个缺点就是颗粒很容易粘在物料室的上壁上。

不管采用何种包衣设备, 通常采用一种喷雾技术分散聚合物溶液和混悬液, 有两种喷嘴可以选择。当液体流出喷头时, 施以高压气体以形成雾滴的是气压喷嘴; 而用高压将流体挤过小孔而形成雾滴的则为液压喷嘴。气压喷嘴的一个优点是雾滴的大小可以单独控制, 而与包衣液流速无关。但液压喷嘴如果改变喷雾速率, 而不调整喷嘴的孔径, 将导致多个参数的变化, 从而使雾化喷出模式发生改变<sup>[19]</sup>。

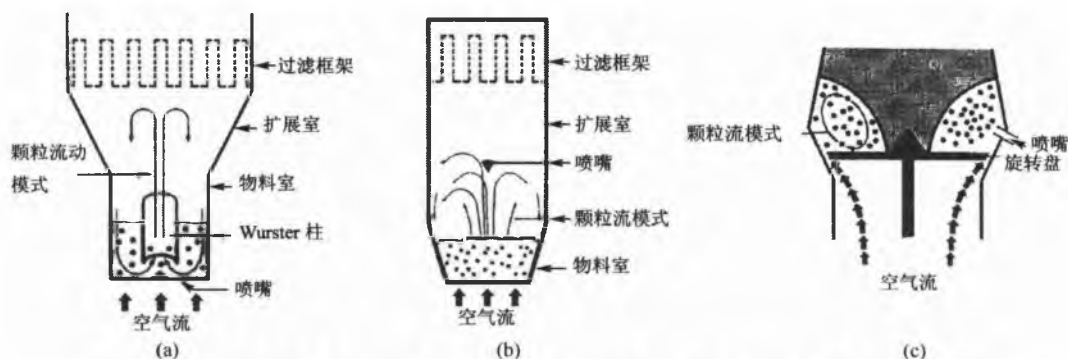


图4 流化床包衣机示意图。(a) 带有 Wurster 衬垫的底喷；(b) 顶喷技术；(c) 切线喷雾<sup>[25]</sup>

许多泵都可以用来输送包衣材料。蠕动泵对于输送在高压下容易凝固的乳状或准乳状聚合物分散液较为理想。它也是最常用和最容易清洗的。为了使液体聚合物材料输送更精确，我们可以使用齿轮泵。但是由于两个齿轮间的结合非常紧密，包衣液中如果有不溶性的固体存在就容易出现堵塞。齿轮泵也比蠕动泵更难清洗一些。活塞泵是利用空气和水压系统。活塞泵的一个优点是通过压力的蓄积，可以较容易地清除喷嘴处的阻塞物。但是，也是因为高压，聚合物材料容易凝结，还有活塞泵非常难清洗。

为了克服传统包衣方法所带来的问题，许多新的包衣方法出现了。Obara 等<sup>[26]</sup>提出了“干粉包衣”技术，即在喷雾增塑剂的同时直接给予聚合物粉末。尽管还需要完善，这项技术还可以应用于流化床和多孔包衣锅方法中，分别如图 5 (a) 和 (b) 所示。这种方法不用有机溶剂或水。据研究人员报道，即使需要用到大量的肠溶性聚合物，包衣时间也可以大大缩短。另外，还有一种静电包衣方法也已经提出来了<sup>[27]</sup>。

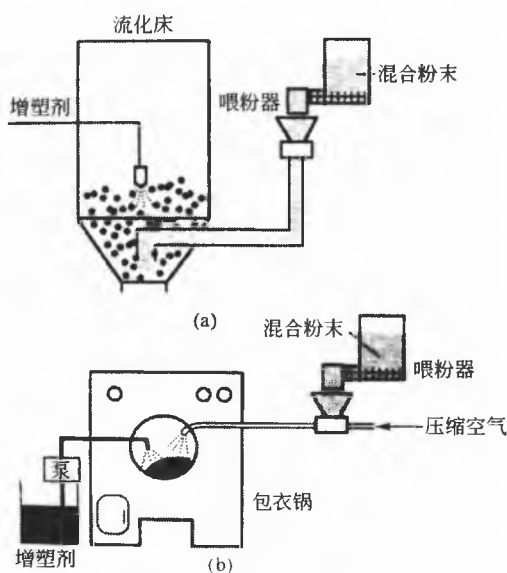


图5 干法包衣示意图。(a) 流化床设备；  
(b) 包衣锅设备<sup>[26]</sup>

## 薄膜包衣材料

### 1. 膜材

膜材主要是丙烯酸类或纤维素类的聚合物，它们的水溶性将决定它们的应用。缓释制剂的衣层一般是水难溶性的或可膨胀性的材料，以减缓药物扩散。用这种材料包衣的制剂可以使血药浓度平稳，减少服药次数，降低甚至消除毒副作用。市售常见的缓释材料有乙基纤维素和水不溶性的聚甲基丙烯酸酯。这些聚合物材料在缓释骨架片或其他新型给药系统中也可以用作黏合剂。相反，水溶性聚合物如羟丙基纤维素、羟丙甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮经常用于制备速崩包衣片，也可将它们加入水不溶性聚合物材料中以加速缓释制剂中药物的释放<sup>[17,28]</sup>。

肠溶衣的溶解度具有 pH 依赖性，已经用于防止药物在胃中的破坏<sup>[29]</sup>，也可以用于降低对胃的刺激<sup>[30]</sup>或将药物靶向输送至小肠。在低 pH 条件下，键合在肠溶聚合物上的酸或酸酯官能团处于非解离状态，因此是不溶的。随着肠道 pH 的上升，这些官能团开始解离，聚合物变成可溶的。所以肠溶膜可以使制剂在胃中保持完整而在小肠中释放药物。市售常见的肠溶材料有邻苯二甲酸醋酸纤维素酯、邻苯二甲酸羟丙甲纤维素酯、羟丙甲纤维素乙酸琥珀酸酯、邻苯二甲酸聚丙烯酸酯和许多甲基丙烯酸共聚物。

### 2. 溶剂

为了完成包衣程序，我们必须使用许多溶剂系统来分散或溶解聚合物。对于指定的膜材，选择溶剂的主要标准有溶解度、挥发性、毒性和污染可控性。早有报道，要制备黏附性最强的最优良的薄膜需要衣材在溶液中的溶解度以及聚合物分子链的延展都达到最大值才行<sup>[31]</sup>。但是由于环境和经济的原因，薄膜包衣技术已经转向以水为基础的系统，我们今天使用的大多数聚合物材料就是以水为基础的溶液或分散液。这种以水为基础的系统降低了爆炸的危险，减少了处理溶剂的成本，也消除了膜中溶剂残留所产

生的毒性。许多市售的聚合物系统都是胶体聚合物微粒分散在水中的乳胶或准乳胶分散液。乳胶是用乳化聚合的方法得到的,而准乳胶分散液是通过聚合物溶液的乳化得到的。准乳胶也可以通过将混悬液喷雾干燥或固体聚合物颗粒机械粉碎的方法制备。乳胶和准乳胶分散液的黏度与聚合物的相对分子质量无关,仅会随着聚合物浓度的升高而略微增大<sup>[32]</sup>。

### 3. 增塑剂

许多聚合物具有脆性,因此为了得到有效的衣层,避免裂纹、磨边或断裂,我们需要加入增塑剂。增塑剂的作用原理是减弱聚合物分子链之间的分子间力,从而引起抗张强度和玻璃化转变温度的降低,以及膜韧性的增强。增塑剂是减少脆性、提高流动性、增强韧性的必要组分<sup>[34]</sup>。增塑剂对膜的性能起着至关重要的作用<sup>[15,35]</sup>。

增塑剂一般是非挥发性、高沸点、不分离的物质,当它们加入聚合物中后,可以改变材料的某种特定的物理和力学的性质。增塑剂应该与聚合物材料互溶,并且应尽量不迁移、不渗出、不蒸发、不挥发。许多化合物都可用作增塑剂,例如水,邻苯二甲酸酯类(如邻苯二甲酸二乙酯),癸二酸酯类(如癸二酸二丁酯),柠檬酸酯类(如柠檬酸三乙酯和四乙酯)是常用的增塑剂。各种乙二醇衍生物(包括乙二醇和聚乙二醇)也可用作增塑剂。此外,表面活性剂、防腐剂和其他化合物在纤维素和丙烯酸聚合物中也显示增塑的作用<sup>[36,37]</sup>。

增塑剂要想起效,必须先由溶剂相分配进入聚合物相,然后进一步在整个聚合物相中扩散,从而扰乱分子间的相互作用。对于水分散液来说,这种分配的速率和程度取决于增塑剂在水中的溶解度和它对聚合物相的亲合力。水溶性增塑剂在水分散液中分配很快,而水不溶性增塑剂则需要很长的平衡时间<sup>[8,39]</sup>。对于水分散系统,水不溶性增塑剂在加入之前应该先乳化<sup>[40]</sup>。包衣开始之前,必须给予增塑剂足够的时间进入聚合物相。如果时间不够,未分配进入聚合物相的增塑剂液滴和已经被增塑的聚合物相都会被喷到底物上,导致膜中增塑剂分布不均,经过一段时间后,膜中聚合物的性质可能会有所变化。Siepmann等<sup>[41]</sup>研究了一种增塑剂摄取模式来预测增塑剂完全分配进入聚合物水分散液所必需的最小搅拌时间。包衣后的热处理可能会帮助减小或消除这种增塑过程的时间效应<sup>[18]</sup>。

增塑剂的效果取决于增塑剂的用量和聚合物-增塑剂相互作用的程度。聚合物-增塑剂混合物涉及的作用力包括氢键、偶极-偶极、偶极-诱导偶极作用以及色散力。文献中有许多测定它们之间作用力的实验方法,包括扭摆<sup>[42]</sup>、蒸汽压下降<sup>[43]</sup>、渗透压<sup>[44]</sup>、膨胀试验<sup>[45]</sup>、气液色谱<sup>[46]</sup>、黏度测定<sup>[47]</sup>、熔点降低<sup>[48]</sup>、核磁共振<sup>[49]</sup>和 Fourier 红外转换<sup>[50]</sup>。差示扫描量热法广泛地应用于测定聚合物-增塑剂相互作用的程度,加入增塑剂后聚合物的玻璃化转变温度的降低是评价增塑剂效果的常用指标<sup>[35,51,52]</sup>。

## 4. 其他添加剂

除了聚合物、增塑剂、溶剂外,包衣处方中也常常加入其他水溶性和水不溶性化合物如色素、抗黏剂、表面活性剂、消泡剂以改善成品的外观、简化制备过程、减少膜的黏性。有时药物也直接加入包衣膜处方中<sup>[32,53]</sup>。添加剂的体积浓度、粒径和粒径分布、化学性质和表面电荷,以及聚合物-添加剂颗粒相互作用的程度都可能显著影响衣层的力学性质、黏附性能以及药物释放的性质<sup>[54~56]</sup>。下面主要讨论几种薄膜包衣添加剂。

### 4.1 抗黏剂

在包衣、后处理和储存过程中,许多制剂的薄膜衣会变黏,并且包衣后的颗粒可能相互粘团结块。这种变黏的程度与聚合物最小成膜温度相关,且随着增塑剂浓度的增大而增强<sup>[57]</sup>。为了降低这种黏性,最大限度地减少包衣颗粒的粘团结块,在包衣处方中通常要加入一些抗黏化合物,滑石粉就是其中最常用的一种抗黏剂。但是高浓度的滑石粉(与聚合物干重相比可高达 100%)可能导致喷嘴堵塞和颗粒沉降。而且滑石粉是疏水性的,有证据表明聚合物薄膜中加入滑石粉会降低水蒸气的渗透性<sup>[2]</sup>和药物的溶出速率<sup>[58]</sup>。但是,也有研究显示滑石粉可能加速溶出,原因可能是其在衣层上形成了裂纹<sup>[59]</sup>。滑石粉还影响聚合物薄膜的力学性质、热力学性质和黏附性能<sup>[60,61]</sup>。单硬脂酸甘油酯(GMS)已经被用作滑石粉的替代品。Wesseling等<sup>[57]</sup>报道对于许多丙烯酸聚合物薄膜,5%的 GMS 可以相当于 50%的滑石粉的抗黏效果。

### 4.2 着色剂

制剂中应用的色素包括水溶性染料铝色淀、遮光剂(如二氧化钛)和各种无机材料(如氧化铁)。颜色迁移和稳定性问题已经限制了水溶性染料在制剂产品中的应用<sup>[63]</sup>。色素可以方便产品的辨认和美化外观。此外,二氧化钛等遮光剂也用于薄膜处方中以提高光敏性药物的稳定性<sup>[1,64]</sup>。

色素加入聚合物分散液中可能导致不相容,如聚合物凝聚或色素的絮凝<sup>[65]</sup>。这种不稳定性与胶体聚合物组分的粒径和表面电荷有关,也与介质的 pH 有关<sup>[66]</sup>。为了稳定聚合物分散液,包衣处方中也可加入其他赋形剂<sup>[40]</sup>。例如,浓度大约 6% (w/w) (以聚合物干重计)的羧甲基纤维素钠可以稳定着色的丙烯酸分散液<sup>[67]</sup>。带负电的纤维素醚的聚合物分子链可以维持色素的空间稳定性,并且可通过增大混合物的黏度阻止絮凝。也有其他一些方法可以稳定水溶性聚合物分散液<sup>[68]</sup>。

各种色素的物理性质(包括相对密度、粒子形状、粒径、晶型)有明显的区别,这将导致与水溶性薄膜衣的复杂关系。已经证明色素的粒径、形状、表面化学和浓度会影响聚合物的性质。比如, Felton 和 McGinity<sup>[69]</sup>发现色素的粒径和薄膜-片黏附力之间呈反比关系。其指出大粒子干

扰聚合物和片子表面的界面键合的程度要大于小粒子。在另一项研究中, Rowe<sup>[70]</sup>认为含有着色剂的聚合物薄膜的弹性绝对值的增加与色素粒子的形状和色素粒子-聚合物的相互作用的程度有关。Maul 和 Schmidt<sup>[71]</sup>研究了许多粒径相似但表面极性不同的色素对药物释放的影响。图 6 显示当薄膜中含有极性表面的色素(如二氧化钛、氧化铁和云母)时,膜的渗透性比只有疏水性的滑石粉时要弱。还有一些研究显示丙烯酸或纤维素薄膜中加入二氧化钛可以增大水蒸气的渗透性<sup>[2,72]</sup>和聚合物的黏附性<sup>[69,73]</sup>。

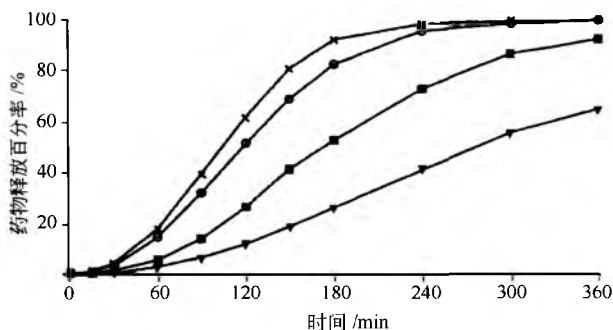


图6 色素的表面化学对茶碱包衣小丸中药物释放的影响。包衣材料为含有增塑剂邻苯二甲酸二丁酯的 Eudragit® RS 30 D。  
▼二氧化钛细粉；■云母；×滑石粉；○红色氧化铁细粉<sup>[71]</sup>

#### 4.3 表面活性剂

表面活性剂应用于包衣处方中可以增强底物的润湿性<sup>[74]</sup>, 促进聚合物材料在底物表面的铺展<sup>[34]</sup>, 还可以匀化包衣混合物<sup>[75]</sup>。聚合物薄膜衣层中加入表面活性剂可以改变各种聚合物的性质。Lindholm 等<sup>[76]</sup>的研究显示, 随着乙基纤维素薄膜中吐温 20 (一种亲水性非离子表面活性剂) 含量的提高, 药物释放速率加快。Lindholm 等认为, 在溶出过程中, 表面活性剂首先从衣层中溶解下来, 在薄膜上形成了许多孔道, 从而促进了药物的扩散。

### 聚合物薄膜的评价

固体剂型中药物释放或溶出度的测定可能是制剂系统最常用的测试方法, 相关的讨论经常可以看到<sup>[77]</sup>。对于薄膜包衣制剂, 聚合物、薄膜厚度、增塑剂的种类和浓度都会影响溶出度<sup>[15,78,79]</sup>。薄膜处方中水溶或水不溶性的赋形剂<sup>[80,81]</sup>、包衣过程中的工艺参数<sup>[16,82]</sup>、后处理干燥过程<sup>[13,18]</sup>以及储存条件<sup>[83]</sup>也会对药物释放产生影响。

包衣产品的药物释放性质和长期稳定性可以通过评价游离薄膜的渗透性和机械强度来预测。常用的制备游离薄膜的方法有涂布法和喷雾法。所谓涂布法, 就是将聚合物溶液或分散液涂到聚四氟乙烯或铝的光滑表面上, 然后慢慢蒸发溶剂。但是要注意, 包衣处方中如果使用了不相混溶的赋形剂, 那么随着溶剂的蒸发, 可能会形成两个不同的薄膜表面。游离薄膜也可以用喷雾的方法制备(设备如

图 7 所示), 这种喷雾技术与固体制剂包衣时使用的方法相似。喷雾盒由表面涂有不黏材料的旋转筒包在一个热盒子里而组成<sup>[84]</sup>。就水性聚合物分散液而言, 用喷雾方法制备的膜一般比用涂布法制备的膜更加均匀, 力学性质也显示出更好的重现性<sup>[85]</sup>。

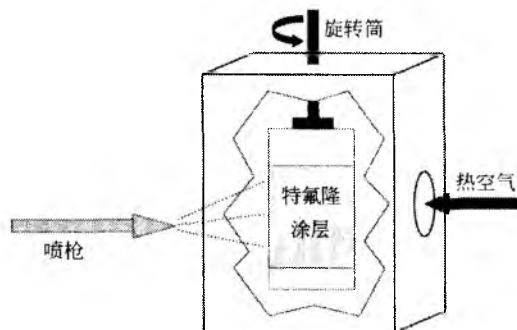


图7 喷雾盒设备示意图

#### 1. 水蒸气的渗透性

聚合物薄膜可以用来保护对湿气敏感的药物, 提高易水解药物的稳定性<sup>[86]</sup>。一般用水蒸气渗透系数来评价薄膜防潮作用的有效性。常用的评价薄膜渗透性的方法是用游离薄膜构建的水蒸气转移池<sup>[53,87]</sup>, 图 8 所示为装置的示意图<sup>[88]</sup>。该转移池由一个装有饱和盐溶液的玻璃圆瓶组成, 饱和盐溶液用来产生特定的内蒸气压。这个圆瓶用聚合物薄膜封口, 并且常常用橡皮环和铝盖进一步密封, 以防止水蒸气从薄膜以外的地方溢出。转移池放在一个湿度可控的室内, 定期称量。转移池是基于蒸汽压力梯度的, 因此质量呈线性增加。每天测量增加的质量, 水蒸气的渗透常数便可以通过式(1)计算

$$P_{em} = \frac{WL}{A\Delta p} \quad (1)$$

式中:  $P_{em}$  为湿气渗透常数;  $W$  为单位时间内湿气转移量;  $L$  为薄膜厚度;  $A$  为薄膜裸露部分的面积;  $\Delta p$  为蒸气压梯度。测定已包衣薄膜的水蒸气渗透性的方法也有报道<sup>[31]</sup>。

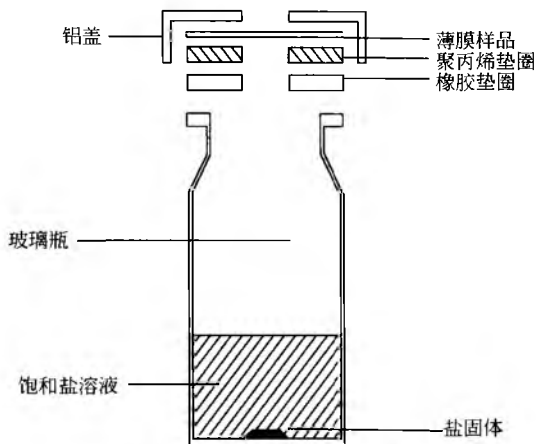


图8 水蒸气渗透池示意图<sup>[88]</sup>

水蒸气的渗透性与膜的组成<sup>[31,89]</sup>、添加剂<sup>[72]</sup>及溶解和分散聚合物的溶剂系统<sup>[2]</sup>有关。许多学者研究了薄膜处方中增塑剂对聚合物薄膜渗透性的影响<sup>[51,84,90]</sup>。聚合物薄膜中亲水性增塑剂可以加快水蒸气的渗透<sup>[2]</sup>，而疏水性增塑剂对水蒸气的渗透性无显著影响<sup>[91]</sup>。

## 2. 热分析

热分析是研究聚合物性质随温度变化的一系列分析试验技术的总称。这些性质包括焓、质量、熔点、熔化热、玻璃化转变温度 ( $T_g$ )。Hatakeyama 和 Quinn<sup>[92]</sup> 对热分析技术进行了详细的描述。

玻璃化转变温度可能是用来测定无定形聚合物材料最常用的物理性质。当温度在聚合物的  $T_g$  以下时，材料一般表现得像一块硬而脆的玻璃，而当温度在聚合物  $T_g$  以上时，材料会表现得软而有弹性。差示扫描量热法广泛地应用于表征赋形剂-聚合物之间相互作用的程度。薄膜包衣处方中增塑剂的效果与其降低聚合物  $T_g$  的能力密切相关<sup>[15,51,52]</sup>。表 1 列出了加入各种柠檬酸酯增塑剂后丙烯酸聚合物的  $T_g$ <sup>[93]</sup>。研究的所有增塑剂，包衣处方中加入 10% 增塑剂都会对聚合物的  $T_g$  产生明显的降低作用，而且浓度越高降低得越多。这些数据显示柠檬酸可以对丙烯酸聚合物起到有效的增塑作用<sup>[33]</sup>。与增塑剂相反，其他添加剂，如滑石粉、二氧化钛、乳糖，可以提高薄膜的  $T_g$ <sup>[69,94]</sup>，这是因为它限制了聚合物分子链的流动性，或者提高了聚合物的结晶度<sup>[95]</sup>。

表 1 含有各种不同浓度增塑剂的 Eudragit® RS 30 D 聚合物薄膜的玻璃化转变温度 ( $T_g$ )<sup>[93]</sup>

增塑剂	Eudragit® RS 30 D <sup>1)</sup> 的 $T_g$	
	10% 增塑剂	20% 增塑剂
柠檬酸三乙酯	34.3	12.8
柠檬酸乙酰基三乙酯	37.0	17.5
柠檬酸三丁酯	38.2	20.5
柠檬酸乙酰基三丁酯	38.2	22.2
甘油三乙酸酯	42.2	27.4

1) 未加入增塑剂时薄膜的  $T_g$  为 55.0℃。

## 3. 力学性质

对聚合物溶液或分散液的基础研究已经集中到力学性质（包括抗张强度、杨氏系数、伸长率）的研究上了。力学试验可以用于评价增塑剂的有效性<sup>[33,99]</sup>、薄膜衣的渗透性<sup>[96]</sup>以及薄膜包衣制剂的溶出度性质<sup>[97,98]</sup>。游离膜抗张试验所获得的力学数据已经用于预测包衣制剂薄膜缺损的发生率<sup>[99]</sup>。这些力学数据也可以用于预测薄膜固体制剂储存的长期稳定性<sup>[100]</sup>。

常见的评价聚合物薄膜力学性质的方法有微刻纹探针分析<sup>[101]</sup>、穿孔和剪切试验<sup>[35,102]</sup>和应力张弛<sup>[103]</sup>。应力-张力应变试验可能是制剂研究中应用最广泛的测定聚合物材料力学性质的方法<sup>[104,105]</sup>，其一般方法是先对游离薄膜施

加轴向力，然后同时测定力与形变。应力-张力试验可以提供一条综合性的曲线，从中我们可以了解很多有用的信息。图 9 所示为由抗张试验获得的一条典型的应力-张力曲线，并显示了所用的术语。在抗张试验中，开始有一段线性曲线，这段表示薄膜的伸长量与所施加的力呈比例。这段线性部分的斜率就是杨氏系数。杨氏系数是薄膜硬度的一种量度或者表示当薄膜经历一个很小的弹性形变时抵抗外力的能力。斜率越大，杨氏系数越大，聚合物薄膜的硬度就越大。在曲线的平台区，薄膜形变的显著增大不能引起应力的显著增加，这就是所谓的塑性形变。在这一阶段，聚合物薄膜结构发生改变，分子链向着平行于薄膜伸展的方向排列。再继续伸长，薄膜将在某一点破裂，就是所谓的破裂伸长率。这一点的应力值叫做最终抗张强度。它是固体反抗断裂的能力的一种量度。曲线下面积代表所做的功，它与聚合物的硬度相关。

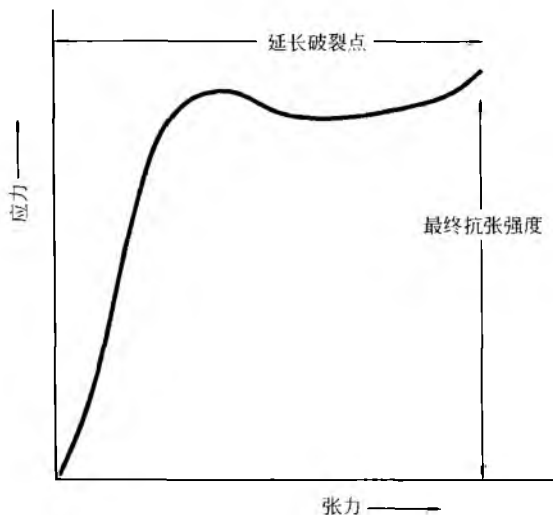


图 9 游离膜的抗张试验得到的应力-张力曲线图

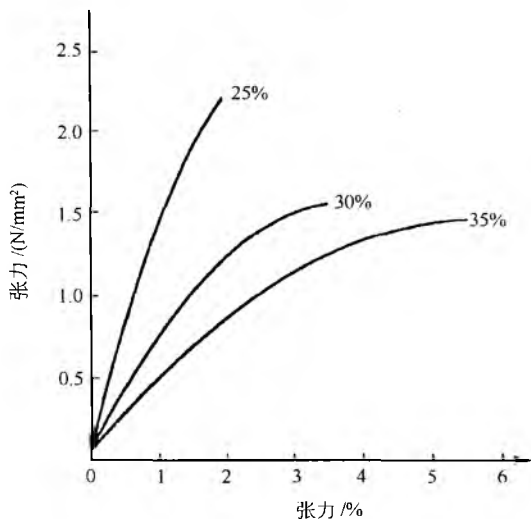


图 10 癸二酸二丁酯浓度对乙基纤维素水分散体 (Aqua-coat) 制备的游离膜张力-应力曲线的影响<sup>[107]</sup>

通过游离膜的抗张试验, 研究人员发现增塑剂的种类和浓度对丙烯酸和纤维素聚合物薄膜的力学性质有影响<sup>[33, 106]</sup>。图 10 显示癸二酸二丁酯浓度对游离乙基纤维素薄膜抗张强度的影响<sup>[107]</sup>。当增塑剂的浓度从 25% 增加到 35%, 破裂伸长率提高, 曲线的斜率降低, 表示薄膜变得更加柔软。储存条件和老化过程也会影响聚合物膜的力学性质<sup>[108, 109]</sup>。

在干燥条件下由游离膜的抗张试验得到的力学可能不能反映包衣固体制剂在与生物体液接触时的情况<sup>[102]</sup>。在溶出过程中, 体液会通过薄膜衣扩散进入固体核, 聚合物薄膜会处于一种含水或润湿的状态。表 2 显示用穿孔试验技

术测定的干燥和润湿状态下的丙烯酸和纤维素薄膜的力学性质。这些数据清楚地显示出润湿状态下的薄膜的硬度和韧性与干燥状态下截然不同。例如, Eudragit L 30 D 虽然在干燥状态下很脆, 但在含水状态下却显示出明显的韧性, 这可能是由于水起到了增塑剂的效果<sup>[35]</sup>。Bodmeier 和 Paeratakul<sup>[102]</sup> 还发现薄膜包衣处方中增塑剂的溶解度会显著影响含水膜的力学性质。含有柠檬酸三乙酯(一种水溶性增塑剂)的薄膜, 干燥和含水状态下的薄膜的力学性质会有显著的差异; 相反, 含有水不溶性的不会滤除的增塑剂柠檬酸乙酰基四丁基酯的薄膜力学性质会没有显著差异。

表 2 不同聚合物分散液 [含有 20% (w/w) 三乙基柠檬酸酯增塑剂] 制备的干燥薄膜和含水薄膜的力学性质 (圆括号内为标准偏差)<sup>[35]</sup>

聚合物分散液 (薄膜厚度/ $\mu\text{m}$ )	穿孔强度/MPa		伸长率/%	
	干燥	含水	干燥	含水
Aquacoat (309)	0.34 (0.11)	0.10 (0.02)	1.34 (0.18)	0.13 (0.02)
Surelease (394)	0.23 (0.44)	0.74 (0.10)	0.62 (0.12)	4.89 (0.90)
Eudragit NE 30 D (314)	2.16 (0.19) <sup>1)</sup>	1.58 (0.10) <sup>1)</sup>	>365.00	>365.00
Eudragit RS 30 D (309)	1.99 (0.23)	0.93 (0.04)	142.83 (4.32)	38.41 (4.65)
Eudragit RL 30 D (316)	1.81 (0.11)	1.60 (0.14)	126.31 (8.04)	13.02 (2.45)
Eudragit L 30 D (264)	0.83 (0.05)	1.78 (0.09) <sup>1)</sup>	0.46 (0.25)	>365.00

1) 膜没有破损。

虽然游离抗张试验已经成为测定聚合物薄膜力学性质的传统方法, 但是抗压试验也逐渐开始应用了<sup>[110]</sup>。抗张和抗压两者之间有许多相似点, 包括操作方法、结果的解释。抗张试验操作方法中也用到位移量, 这点与抗张试验相似, 当然施加力的方向除外。抗压试验的一个优点是我们可以研究底物、储存条件、老化过程对聚合物薄膜力学性质的影响。包衣制剂的抗压试验也已经用于定量测定聚合物的黏附性质, 单破裂峰意味着高的底物/衣层黏附性<sup>[3]</sup>。图 11 为肠溶明胶软胶囊抗压试验的压力-变形量示意图。大多数情况下, 胶囊壳和聚合物薄膜同时破裂, 如图 11 (a) 所示, 这表示黏附性好; 图 11 (b) 所示一些明胶软胶囊薄膜会先破裂然后胶囊壳再破裂, 研究人员认为这是膜和胶囊黏附性不好的原因<sup>[9]</sup>。

近来, 制剂文献中包衣微丸的抗压试验引起了关注, 研究人员将包衣微丸压制成药片能力更强的片剂<sup>[111, 112]</sup>。也有其他一些文献讨论了包衣微丸抗压性质的定量方法<sup>[113, 114]</sup>。压片过程中的压力是很关键的, 如果压力超过了衣层的强度, 薄膜就会破裂, 溶出速度就会加快<sup>[115]</sup>。由于压片过程中强烈的接触, 包衣微丸上的薄膜可能融合在一起形成骨架片, 因此也有可能减慢药物的释放<sup>[40]</sup>。可压性赋形剂, 如淀粉和微晶纤维素, 在压片之前先与包衣微丸干粉混合, 以消除薄膜衣可能的破裂或融合。这些赋形剂可以防止与衣层的直接接触, 并且减少压片过程中的摩擦。乙酰水杨酸包衣微丸加入至少 15% 的微晶纤维素可以防止骨架片的形成<sup>[116]</sup>。

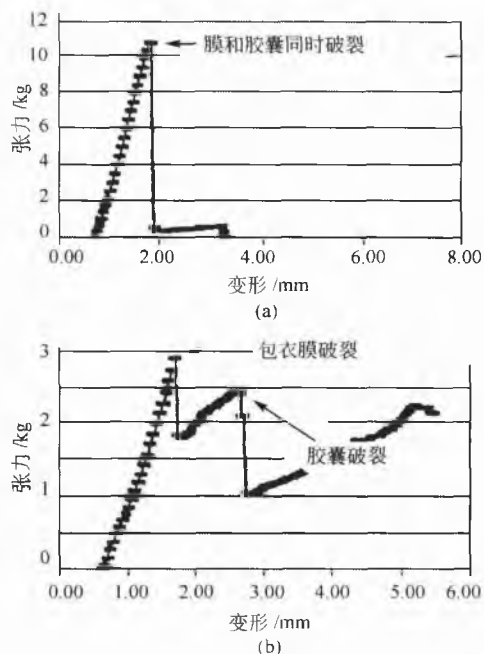


图 11 充填 PEG 液体的明胶软胶囊用 Eudragit® L 30 D-55 包衣的抗压试验结果, (a) 20% 柠檬酸三乙酯增塑; (b) 20% 柠檬酸三丁酯增塑<sup>[9]</sup>



#### 4. 聚合物的黏附性

聚合物和固体表面之间的黏附性是制剂薄膜包衣的一个主要的先决条件<sup>[117]</sup>。黏附性不好可能导致储存过程中薄膜衣从底物上剥落,这将显著影响薄膜的功能。黏附性不好,水分很容易在薄膜-片剂界面累积,影响易水解药物的稳定性<sup>[118]</sup>。黏附性不好,也有损衣层对片剂的机械保护<sup>[3]</sup>。此外,黏附试验对于药剂学家在处方前研究阶段研究片剂赋形剂和聚合物包衣处方之间的关系也有很大的帮助<sup>[119]</sup>。

##### 4.1 黏附所涉及的力

已经发现两个主要的影响片剂-聚合物黏附性的力是界面键合力和衣层内应力。对于制剂产品,形成氢键是片剂表面和聚合物界面接触的主要类型,偶极-偶极和偶极-诱导偶极作用也时有发生。影响聚合物和固体表面形成的键的种类和数量的因素将影响膜的黏附性<sup>[117]</sup>。

影响聚合物黏附性的第二个主要因素是薄膜的内应力。当聚合物溶液或分散液包裹到底物上时,衣层上的内应力就不可避免地产生了<sup>[120]</sup>。这些应力包括溶剂蒸发时薄膜萎缩产生的应力、薄膜和底物热膨胀能力不同产生的热应力、储存时底物膨胀导致体积变化产生的体积应力。许多研究人员已经总结出用来评价薄膜总内应力的公式<sup>[120,121]</sup>。

总内应力  $P$  可以用式 (2) 计算:

$$P = \frac{E}{3(1-\nu)} \left( \frac{\phi_s - \phi_t}{1 - \phi_t} + \Delta\alpha_{\text{cubic}} \Delta T + \frac{\Delta V}{V} \right) \quad (2)$$

式中:  $E$  为薄膜的弹性系数;  $\nu$  为聚合物的泊松比;  $\phi_s$  为薄膜固化点的溶剂的体积分数;  $\phi_t$  为环境条件下干燥薄膜内残留溶剂的体积分数;  $\Delta\alpha_{\text{cubic}}$  为薄膜衣和底物热膨胀系数立方差;  $\Delta T$  为聚合物的玻璃化转变温度和制备及储存过程中的温度差;  $\Delta V$  为片剂核芯的体积变化;  $V$  为片剂核芯的初始体积。尽管式 (2) 由聚合物溶液推导得出,它也可以应用到聚合物分散液中。由式 (2) 我们可以看出,薄膜的总内应与聚合物的弹性成正比。因此影响聚合物弹性系数的因素都可以影响薄膜-片剂的黏附力。

##### 4.2 评价黏附性的方法

片剂尺寸小、底物表面粗糙给药剂学家评价聚合物黏附性带来了一定的困难。20 世纪 70 年代,薄膜-片剂黏附力是用剥落试验评价的,即用一个改良的张力测试仪垂直从片剂表面剥落薄膜<sup>[122]</sup>。但是剥落角度跟薄膜的弹性和黏附的均匀性有关,这必将产生显著的测量误差<sup>[123]</sup>。最近,碰撞黏附技术有了很大的改进<sup>[122,127,128]</sup>。尽管与剥落试验有所类似,但该技术是整张膜被剥掉,而不是部分被剥掉。这种技术消除了由膜弹性引起的误差,受黏附的不均匀性影响也小了。

通过碰撞黏附试验,我们可以得到力-变形量图,举例见图 12。这个类似于游离膜抗张试验中得到的应力-应变曲线的图形,可以给出我们试验测得的黏附力的大小。此外,还可以测定黏附失败伸长量、黏附系数和薄膜黏附强度。

黏附失败伸长量是上盘在游离膜上移动的距离。与游离膜抗张试验中的破裂伸长量相似,黏附失败伸长量反映聚合物薄膜的延展性。黏附系数是力-变形量曲线的线性部分的斜率,类似于抗张试验中得到的杨氏系数。黏附强度是将薄膜从片剂表面出去所需做的功,可以由力-变形量曲线下面积计算得到。

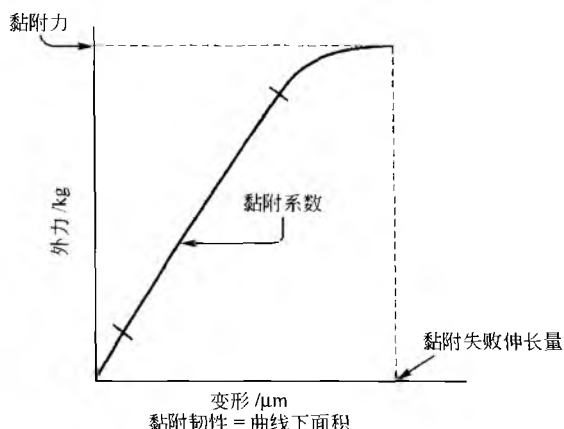


图 12 碰撞黏附实验得到和力-变形曲线

##### 4.3 底物变化对黏附性的影响

片剂表面的粗糙程度和压片过程所用的压力,可以改变薄膜衣层和固体表面的有效接触面积,因而会影响聚合物的黏附性能。已经证明压片过程的压力会显著影响纤维素薄膜(包衣过程采用的溶剂为有机溶剂)的黏附性。如图 13 所示<sup>[123]</sup>,在临界压力以上,再增加压力会导致黏附性降低。在临界压力以下,片剂内聚力不够,会发生裂片,而不是薄膜的脱落。从这个试验我们也可以看出片剂表面的孔隙率和聚合物黏膜性之间的关系,如图 13 所示,作者把这种关系归因于溶剂渗透进入底物核芯的程度和薄膜-片表面的物理混合。当采用以水为溶剂的丙烯酸分散液时, Felton 和 McGinity<sup>[119]</sup> 也发现,片剂表面越粗糙,聚合物的黏附性越强。

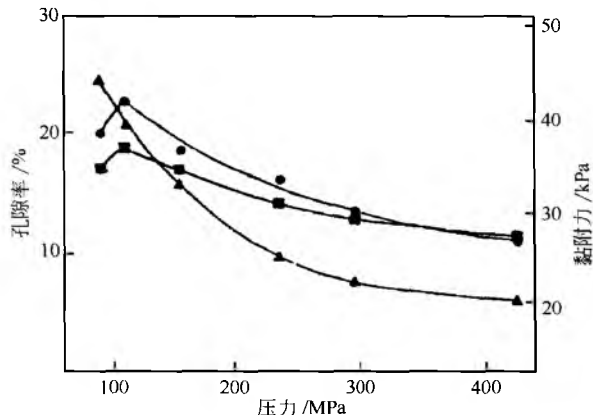


图 13 压片力对孔隙率(▲)及低黏度(●)和高黏度(■) HPMC 薄膜黏附性的影响<sup>[123]</sup>

由于黏附的作用力主要是形成氢键，处方中加入疏水性黏附剂就会使片剂表面主要被非极性基团所占据，从而可以降低黏附性。如图 14 所示，提高润滑剂硬脂酸（有一个极性羧基）的浓度，纤维素聚合物薄膜（包衣过程中采用的溶剂为有机溶剂）的黏附性就会增大<sup>[124]</sup>。但当加入更多的疏水性润滑剂时，聚合物的黏附性又会降低。增加片剂中硬脂酸镁的浓度，也会显著降低以水为溶剂的丙烯酸和纤维素聚合物薄膜的黏附性<sup>[115,125]</sup>。相反，加入微晶纤维素可以提高片剂的黏附性，这可能是由于片剂表面被赋形剂的羟基饱和了的缘故。

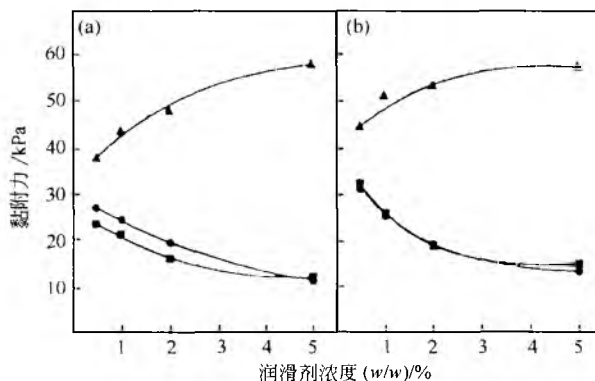


图 14 润滑剂浓度 (w/w) 对 HPMC 黏附力的影响。

(a) Pharmacoat® 606; (b) Methocel® 60HG, 黏度 500

▲硬脂酸; ●硬脂酸镁; ■硬脂酸钙<sup>[124]</sup>

#### 4.4 薄膜包衣层变量对黏附性的影响

许多研究已经显示薄膜包衣处方所用的溶剂系统对聚合物的黏附性有影响<sup>[126]</sup>。溶剂系统会与聚合物系统相互作用，并且影响聚合物分子链的自由螺旋结构。一般来说，聚合物和溶剂的相互作用越强，尾到尾的距离越长，从而暴露更多的能够与固体表面相互作用或键合的聚合物。既然聚合物溶剂化作用越强，薄膜-片黏附性就越强，Nadkarni 等<sup>[127]</sup>建议用溶剂的溶解度参数作为聚合物溶剂化程度的定量指标。1988 年，Rowe<sup>[128]</sup>用片剂赋形剂和聚合物的溶解度参数建立了方程来预测薄膜-片黏附性的趋势。Wood 和 Harder<sup>[122]</sup>曾用接触角（表面润湿指标）预测聚合物的黏附性。与之相反，Felton 等<sup>[74]</sup>曾将表面活性剂加入丙烯酸聚合物分散液中来改变底物的润湿性。这些研究人员建议润湿性不能用来预测聚合物分散液黏附性，因为键合到底物上的是聚合物而不是溶剂。

聚合物薄膜的内应力是影响聚合物黏附性的两个主要作用力之一<sup>[120]</sup>。包衣处方中加入增塑剂一般会降低薄膜衣层的弹性系数 ( $E$ ) 和玻璃化转变温度 ( $T_g$ )，从而降低薄膜的内应力 [式 (2)]。Felton 和 McGinity<sup>[129]</sup>阐述了聚合物的黏附性和  $T_g$  之间的关系。如表 3 所示，在轻微增塑的薄膜中，薄膜-片剂的黏附力最强。研究人员认为产生这些结果的原因是聚合物-增塑剂相互作用的程度和增塑剂降

低薄膜衣层内应力的有效性。高浓度的增塑剂会引起黏附力的轻微降低以及黏附破裂伸长率和黏附强度的显著提高 (图 15)<sup>[129]</sup>。这些结果同样被归因于薄膜内应力的降低和聚合物弹性的提高。有趣的是，当片剂表面的疏水性一定时，黏附性也取决于增塑剂的理化性质，含有疏水性增塑剂的薄膜更容易黏附在疏水性底物上<sup>[129]</sup>。

表 3 包衣处方中的增塑剂对丙烯酸树脂共聚物的黏附力及玻璃化转变温度 ( $T_g$ ) 的影响<sup>[129]</sup>

增塑剂	黏附力/kG	$T_g$ /°C
柠檬酸三乙酯	4.85 (0.27)	36.5 (1.1)
PEG 6000	4.32 (0.25)	38.6 (2.5)
柠檬酸三丁酯	3.81 (0.30)	51.2 (2.2)
癸二酸二丁酯	3.48 (0.33)	62.0 (3.6)

注：圆括号内为标准偏差。

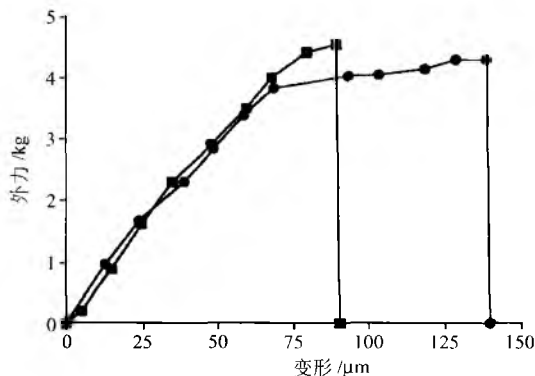


图 15 柠檬酸三乙酯浓度对片剂用 Eudragit® L 30 D-55 包衣的力-位移曲线的影响<sup>[129]</sup>。■20%; ●30%

包衣处方中的不溶性添加剂（包括滑石粉、二氧化钛和其他颜料）也被发现会影响聚合物的黏附性<sup>[118]</sup>。这些不溶性赋形剂一般会引起薄膜内应力的提高并且会被包埋在薄膜-片界面上<sup>[70,117]</sup>。薄膜衣处方中赋形剂影响聚合物黏附性的程度与衣层中不溶性物质的粒径、浓度和结晶度有关<sup>[56,69,118,125]</sup>。

#### 4.5 操作参数对黏附性的影响

包衣过程中片核的尺寸变化会影响产品的薄膜内应力，也可能影响聚合物最终的黏附性<sup>[130]</sup>。底物的膨胀程度与包衣过程中的温度有关。Rowe<sup>[131]</sup>建议片核的赋形剂和衣层所用的聚合物材料应该有相近的热膨胀系数，从而使包衣过程中内应力的变化减小到最小限度。

后处理过程也会影响聚合物的黏附力。随着溶剂的蒸发和聚合物的聚结，聚合物-底物可能键合的位置增多，如图 16 所示。Felton 和 Baca<sup>[14]</sup>认为后处理过程中薄膜-片黏附力增大，黏附力与底物和薄膜处方中的增塑剂的疏水性都有关。环境储存条件也对聚合物黏附性有影响<sup>[9,73,118,126,129]</sup>。

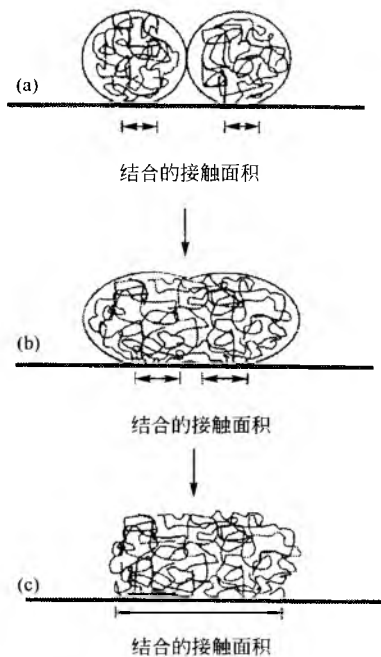


图 16 膜形成过程中膜-底物相互作用的增强示意图<sup>[14]</sup>。(a) 紧密堆积的聚合物球；(b) 融合开始，聚合物链缠结；(c) 形成薄膜

## 薄膜包衣过程中遇到的问题

### 1. 薄膜的缺损

包衣制剂一般是用直接观察的方法检查薄膜的缺损情况<sup>[132]</sup>，常见的缺损情况见表 4<sup>[133]</sup>。一些缺损看起来还比较自然，但有些则比较严重甚至损伤薄膜衣层的功能。改变包衣工艺的条件、调整包衣处方或底物处方可以解决这个问题。例如，当包衣过程中片剂之间短暂地相互粘连，采摘现象就会发生。这种缺损情况一般是由于过湿的片床引起的，可以通过降低喷雾速度和提高床温来消除<sup>[63]</sup>。也可以通过在包衣处方中加入抗黏剂消除。色斑是一种有斑点的或污染了的衣层，它的发生与色素分布不均及颜色迁移有关。如果包衣液中的色素分散均匀，通过提高包衣锅的转速、包衣锅中加入挡板以及增加喷枪数量的方法，这种薄膜的颜色差异是可以减少的<sup>[134,135]</sup>。类似橘皮的表面粗糙现象的发生一般是由于喷雾液滴太黏而无法在底物表面铺展而造成的。当内应力超过抗张强度时，更严重的可能损害薄膜功能的缺损情况，如龟裂和剥落，也可能发生。这时需要重新设计包衣处方<sup>[132]</sup>。

### 2. 底物的特性

底物的物理和化学性质是我们在薄膜包衣过程中应该重点考虑的问题。例如，底物必须足够结实，这样才能经得起包衣设备的颠簸。硬度不够的片子就容易发生碎片或

裂片，因此需要减慢包衣锅的转速。当聚合物溶液或分散液接触到底物时，衣层和底物间就会发生相互作用<sup>[95,98,136~138]</sup>。当底物中含有低熔点的赋形剂（如硬脂酸）时，就会发生凹痕现象<sup>[139]</sup>。药物也有可能和薄膜衣中的赋形剂发生相互作用。增加密封衣层或内衣层可以隔离活性成分从而消除这种相互作用。

一般认为缓释蜡质骨架片很难用水溶性聚合物包衣，这是由于这种疏水性片剂表面润湿性差的缘故<sup>[141]</sup>。底物的理化性质也已经证明会影响聚合物的力学和黏附性质<sup>[69,119]</sup>。软硬明胶胶囊包衣时都有报道出现过黏附性问题<sup>[8,9,142]</sup>。与片剂相比，胶囊壳一般只能提供较少的界面接触面积<sup>[143,144]</sup>。在包衣处方中的增塑剂一定的情况下，软明胶胶囊填充液的疏水性也会影响聚合物的黏附性<sup>[9]</sup>。在包衣处方中加入 PEG 400 或 PEG 6000，或用羟丙基纤维素或羟丙甲基纤维素作内衣层可以增加黏附性<sup>[117]</sup>。

除了黏附问题，由于明胶的物理性质所导致的用水溶性聚合物给胶囊包衣时遇到的困难也有报道。包衣过程中由于包衣锅的颠簸，胶囊的囊帽和囊身可能会分开；胶囊壳可能由于明胶的溶解变得很黏，也可能由于水分蒸发而变脆。因此床温和聚合物的喷雾速度在胶囊包衣过程中就显得至关重要。此外，在软胶囊包衣时需要先预热<sup>[8,9]</sup>。填充液体必须升高到床温以使薄膜能够均匀干燥。

表 4 薄膜包衣过程中常见的缺损情况列表<sup>[133]</sup>

缺损	描述
起泡	薄膜局部脱离产生起泡
模糊	衣层发暗
雾浊	膜上有白点或成朦胧状态
桥连（发生在刻字上）	薄膜悬于刻字之上形成桥连
碎屑	薄膜形成碎屑
颜色差异	片间颜色存在差异
龟裂	片剂顶部裂开
火山口	薄膜上形成类似火山口
剥落	薄膜剥落露出片剂表面
填充	刻字被固化泡沫填充
色斑	颜色的不均匀分布（片内）
橘皮	薄膜表面粗糙像橘皮
去皮	薄膜从片剂边缘剥落露出片剂表面
采摘	薄膜上单独的一块脱落下来
凹痕	由片核表面凹痕引起，膜无破裂
粗糙	薄膜粗糙不光滑
起皱	薄膜表面起皱

### 3. 自然老化

药物释放速度会随时间而变化，这是薄膜包衣产品可能发生的另一个重要问题，它一般是由老化所引起的。制剂产品所用的大多数聚合物是无定形的，它们在玻璃化转变温度以下时属于热力学的非平衡态。在一段时间内，这



## K

些无定形聚合物将向平衡态缓慢转化。这一过程的示意图如图 17 所示。当温度降低到玻璃化转变温度以下后,聚合物的自由体积在一定时间内会朝着更低的自由能的方向缓慢减小。这一过程即为自然老化过程。Ali 和 Sheldon<sup>[145]</sup>认为老化过程中聚合物分子链段将发生重组。研究人员表示老化会显著影响薄膜包衣产品的长期稳定性,包括渗透性、力学性质、黏附性质以及药物释放性能<sup>[100,108,146,147]</sup>。薄膜衣层的完全聚结对于自然老化最小化是至关重要的<sup>[148]</sup>。最后,值得注意的是衣层所用的聚合物对环境储存条件是非常敏感的,温度和湿度都可以显著地改变聚合物的性质<sup>[13,18,83,100,108,109]</sup>。

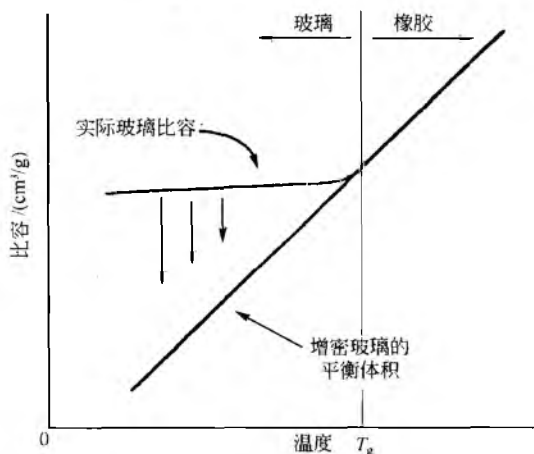


图 17 无定形聚合物老化的起源示意图

## 结论

纤维素和丙烯酸聚合物薄膜已经广泛用于制剂产品的包衣,以达到美观、保护和功能性目的。包衣所采用的方法一般是喷雾干燥技术。其他赋形剂如增塑剂、色素、抗黏剂、表面活性剂等,也可以加入包衣处方中以辅助包衣过程或改善包衣外观。但是,这些赋形剂的加入可能改变薄膜的性质或影响药物的释放速率。在研究薄膜包衣处方时,需要评价许多聚合物的性质,得到许多有用的数据,从而对最终产品的溶出性质及长期稳定性做出预测。黏附性对薄膜的性能是至关重要的,底物的理化性质、包衣处方中的添加剂以及包衣过程中的条件参数都会对其产生影响。内衣层已经被用于增加聚合物黏性,同时也可以起到隔离薄膜和底物中活性成分的作用。聚合物薄膜的缺损可以通过调整包衣工艺参数或重组衣层和(或)底物处方的方法加以消除。包衣制剂的老化会引起药物释放性能的变化,因此包衣时聚合物薄膜应该尽可能地完全聚结,从而使这一问题最小化。

## 参考文献

1. Bechard, S. R.; Quraishi, O.; Kwong, E. Film Coating: Effect of Titanium Dioxide Concentration and Film Thickness on the Photostability of Nifedipine. *Int. J. Pharm.* 1992, 87, 133—139.
2. List, P. H.; Kassis, G. On the Permeability of Various Tablet Coatings to Water Vapour and Oxygen. *Acta Pharm. Technol.* 1982, 28, 21—33.
3. Stanley, P.; Rowe, R. C.; Newton, J. M. Theoretical Considerations of the Influence of Polymer Film Coatings on the Mechanical Strength of Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1981, 33, 557—560.
4. Roy, G. M. Taste Masking in Oral Pharmaceuticals. *Pharm. Tech.* 1994, 18 (Apr), 84—97.
5. Tang, L.; Schwartz, J. B.; Porter, S. C.; Schnaare, R. L.; Wigent, R. J. Drug Release from Film-Coated Chlorpheniramine Maleate Nonpareil Beads: Effect of Water-Soluble Polymer, Coating Level, and Soluble Core Material. *Pharm. Dev. Technol.* 2000, 5 (3), 383—390.
6. Ghebre-Sellassie, I.; Iyer, U.; Kubert, D.; Fawzi, M. B. Characterization of a New Water-Based Coating for Modified-Release Preparations. *Pharm. Tech.* 1988, 12 (Sep), 96—106.
7. Gazzaniga, A.; Iamartino, P.; Maffione, G.; Sangalli, M. E. Oral Delayed-Released System for Colonic Specific Delivery. *Int. J. Pharm.* 1994, 108, 77—83.
8. Felton, L. A.; Haase, M. M.; Shah, N. H.; Zhang, G.; Infeld, M. H.; Malick, A. W.; McGinity, J. W. Physical and Enteric Properties of Soft Gelatin Capsules Coated with Eudragit L 30 D-55. *Int. J. Pharm.* 1995, 113, 17—24.
9. Felton, L. A.; Shah, N. H.; Zhang, G.; Infeld, M. H.; Malick, A. W.; McGinity, J. W. Physical-Mechanical Properties of Film-Coated Soft Gelatin Capsules. *Int. J. Pharm.* 1996, 127, 203—211.
10. Felton, L. A.; Perry, W. L. A Novel Technique to Quantify Film-Tablet Interfacial Thickness. *Pharm. Dev. Technol.* 2002, 7 (1), 1—5.
11. Hutchings, D.; Kuzmak, B.; Sakr, A. Processing Considerations for an EC Latex Coating System; Influence of Curing Time and Temperature. *Pharm. Res.* 1994, 11 (10), 1474—1478.
12. Lippold, B. H.; Sutter, B. K.; Lippold, B. C. Parameters Controlling Drug Release from Pellets Coated with Aqueous Ethyl Cellulose Dispersions. *Int. J. Pharm.* 1989, 54, 15—25.
13. Bodmeier, R.; Paeratakul, O. The Effect of Curing on Drug Release and Morphological Properties of Ethylcellulose Pseudolatex-Coated Beads. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1994, 20 (9), 1517—1533.

1. Bechard, S. R.; Quraishi, O.; Kwong, E. Film Coating;

14. Felton, L. A.; Baca, M. L. Influence of Curing on the Adhesive and Mechanical Properties of an Applied Acrylic Polymer. *Pharm. Dev. Technol.* 2001, 6 (1), 1—9.
15. Amighi, K.; Moes, A. Influence of Plasticizer Concentration and Storage Conditions on the Drug Release Rate from Eudragit RD30D Film-Coated Sustained-Release Theophylline Pellets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1996, 42 (1), 29—35.
16. Williams, R. O., III; Liu, J. Influence of Processing and Curing Conditions on Beads Coated with an Aqueous Dispersion of Cellulose Acetate Phthalate. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 49, 243—252.
17. Frohoff-Hulsmann, M. A.; Schmitz, A.; Lippold, B. C. Aqueous Ethyl Cellulose Dispersions Containing Plasticizers of Different Water Solubility and Hydroxypropyl Methylcellulose as Coating Material for Diffusion Pellets. I. Drug Release Rates from Coated Pellets. *Int. J. Pharm.* 1999, 177, 69—82.
18. Wessling, M.; Bodmeier, R. Influence of Plasticization Time, Curing Conditions, Storage Time, and Core Properties on the Drug Release from Aquacoat-Coated Pellets. *Pharm. Dev. Technol.* 2001, 6 (3), 325—331.
19. Mehta, A. Processing and Equipment Considerations for Aqueous Coatings. In *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, 2nd Ed.; McGinity, J. W., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 287—326.
20. Bauer, K. H.; Lehmann, K.; Osterwald, H. P.; Rothgang, G. Equipment for Sugar Coating and Film Coating Processes. In *Coated Pharmaceutical Dosage Forms*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1998; 153—184.
21. Christensen, F. N.; Bertelsen, P. Qualitative Description of the Wurster-Based Fluid-Bed Coating Process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23 (5), 451—463.
22. Harris, M. R.; Ghebre-Sellassie, I.; Nesbitt, R. U. A Water-Based Coating Process for Sustained Release. *Pharm. Tech.* 1986, 10 (Sep), 102—107.
23. Jones, D. Air Suspension Coating for Multiparticulates. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1994, 20 (20), 3175—3206.
24. Hossain, M.; Ayres, J. W. Variables That Influence Coat Integrity in a Laboratory Spray Coater. *Pharm. Tech.* 1990, 14 (Oct), 72—82.
25. Wesdyk, R.; Joshi, Y. M.; Jain, N. B.; Morris, K.; Newman, The Effect of Size and Mass on the Film Thickness of Beads Coated in Fluidized Bed Equipment. *Int. J. Pharm.* 1990, 65, 69—76.
26. Obara, S.; Maruyama, N.; Nishiyama, Y.; Kokubo, H. Dry Coating: An Innovative Enteric Coating Method Using a Cellulose Derivative. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1999, 47, 51—59.
27. Houlton, S. Electrostatics in Continuous Tablet Coating. *Manuf. Chem.* 1998, 69, 13—16.
28. Takka, S.; Rajbhandari, S.; Sakr, A. Effect of Anionic Polymers on the Release of Propranolol Hydrochloride from Matrix Tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2001, 52, 75—82.
29. Levine, M. M.; Ferreccio, C.; Cryz, S.; Ortiz, E. Comparison of Enteric-Coated Capsules and Liquid Formulation of Ty21a Typhoid Vaccine in Randomized Controlled Field Trial. *Lancet* 1990, 336, 891—894.
30. Petroski, D. Endoscopic Comparison of Various Aspirin Preparations. Gastric Mucosal Adaptability to Aspirin Restudied. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 1989, 45, 945—954.
31. Banker, G. S.; Gore, A. Y.; Swarbrick, J. Water Vapour Transmission Properties of Applied Polymer Films. *J. Pharm. Pharmacol.* 1966, 18 (Suppl.), 205S—211S.
32. Bodmeier, R.; Paeratakul, O. Propranolol HCL Release from Acrylic Films Prepared from Aqueous Latexes. *Int. J. Pharm.* 1990, 59, 197—204.
33. Gutierrez-Rocca, J. C.; McGinity, J. W. Influence of Water Soluble and Insoluble Plasticizers on the Physical and Mechanical Properties of Acrylic Resin Copolymers. *Int. J. Pharm.* 1994, 103, 293—301.
34. Banker, G. S. Film Coating Theory and Practice. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55 (1), 81—89.
35. Bodmeier, R.; Paeratakul, O. Mechanical Properties of Dry and Wet Cellulosic and Acrylic Films Prepared from Aqueous Colloidal Polymer Dispersions Used in the Coating of Solid Dosage Forms. *Pharm. Res.* 1994, 11 (6), 882—888.
36. Lindholm, T.; Juslin, M.; Lindholm, B. -A.; Poikala, M.; Tiilikainen, S.; Varis, H. Properties of Free Ethyl Cellulose Films Containing Surfactant and Particulate Matter. *Pharm. Ind.* 1987, 49 (7), 740—746.
37. Wu, C.; McGinity, J. W. Non-traditional Plasticization of Polymeric Films. *Int. J. Pharm.* 1999, 177, 15—27.
38. Iyer, U.; Hong, W. -H.; Das, N.; Ghebre-Sellassie, I. Comparative Evaluation of Three Organic Solvent and Dispersion-Based Ethylcellulose Coating Formulations. *Pharm. Technol.* 1990, 14, 68—86.
39. Bodmeier, R.; Paeratakul, O. The Distribution of Plasticizers Between Aqueous and Polymer Phases in Aqueous Colloidal Polymer Dispersions. *Int. J. Pharm.*

- 1994, 103, 47—54.
40. Lehmann, K. O. R. Chemistry and Application Properties of Polymethacrylate Coating Systems. In *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, 2nd Ed.; McGinity, J. W., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 101—176.
41. Siepmann, J.; Paeratakul, O.; Bodmeier, R. Modeling Plasticizer Uptake in Aqueous Polymer Dispersions. *Int. J. Pharm.* 1998, 165, 191—200.
42. Sakellariou, P.; Hassan, H.; Rowe, R. C. Plasticization and Interactions of Polyethylene Glycol 6000 with Hydroxypropyl Methylcellulose/Polyvinyl Alcohol Blends. *Int. J. Pharm.* 1994, 102, 207—211.
43. Tait, P. J. T.; Abushihada, A. M. Comparative Studies on the Use of Gas Chromatographic and Vapour Pressure Techniques for the Determination of the Interaction Energy Parameter. *Polymer* 1977, 18, 810—816.
44. Spurlin, H. M.; Martin, A. F.; Tennent, H. G. Characterization of Cellulose Derivatives by Solution Properties; Plasticizers as Solvents. *J. Polym. Sci.* 1946, 1 (2), 63—74.
45. Chi, M. S. Compatibility of Cross-Linked Polymers with Plasticizers by Glass Transition Temperature Measurement and Swelling Tests. *J. Polym. Sci. Pol. Chem. Ed.* 1981, 19, 1767—1779.
46. Edelman, A.; Fradet, A. Inverse Gas Chromatography Study of Some Triacetin-Polymer Systems. *Polymer* 1989, 30, 317—323.
47. Entwistle, C. A.; Rowe, R. C. Plasticization of Cellulose Ethers Used in the Film Coating of Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1978, 31, 269—272.
48. Anagnostopoulos, C. E.; Coran, A. Y. Polymer-Diluent Interactions. II. Polyvinyl Chloride-Diluent Interactions. *J. Polym. Sci.* 1962, 57, 1—11.
49. Belore, L. A.; Cooper, S. L. Thermodynamic Miscibility in Polymer-Polymer and Polymer-Diluent Blends. *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.* 1983, 21, 114—115.
50. Theodorou, M.; Jasse, B. Fourier-Transform Infrared Study of Conformational Changes in Plasticized Poly (Vinyl Chloride). *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.* 1983, 21, 2263—2274.
51. Johnson, K.; Hathaway, R.; Leung, P.; Franz, R. Effect of Triacetin and Polyethylene Glycol 400 on Some Physical Properties of Hydroxypropyl Methylcellulose Free Films. *Int. J. Pharm.* 1991, 73, 197—208.
52. Verhoeven, J.; Schaeffer, R.; Bouwstra, J. A.; Junginger, H. E. The Physico-chemical Characterization of Poly (2-Hydroxyethyl Methacrylate-co-Methacrylic Acid); Effect of Water, PEG 400 and PEG 6000 on the Glass Transition Temperature. *Polymer* 1989, 30, 1946—1950.
53. Jenquin, M. R.; Sarabia, R. E.; Liebowitz, S. M.; McGinity, J. W. Relationship of Film Properties to Drug Release from Monolithic Films Containing Adjuvants. *J. Pharm. Sci.* 1992, 81 (10), 983—989.
54. Maejima, T.; McGinity, J. W. Influence of Film Additives on Stabilizing Drug Release Rates from Pellets Coated with Acrylic Polymers. *Pharm. Dev. Technol.* 2001, 6 (2), 211—221.
55. Bianchini, R.; Resciniti, M.; Vecchio, C. Technological Evaluation of Aqueous Enteric Coating Systems with and without Insoluble Additives. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1991, 17 (13), 1779—1794.
56. Felton, L. A.; McGinity, J. W. Influence of Insoluble Excipients on Film Coating Systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2002, 28, 225—243.
57. Wesseling, M.; Kuppler, F.; Bodmeier, R. Tackiness of Acrylic and Cellulosic Polymer Films Used in the Coating of Solid Dosage Forms. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1999, 47, 73—78.
58. Fassihi, R. A.; McPhillips, A. M.; Uraizee, S. A.; Sakr, A. M. Potential Use of Magnesium Stearate and Talc as Dissolution Retardants in the Development of Controlled Drug Delivery Systems. *Pharm. Ind.* 1994, 56 (6), 579—583.
59. Chang, R. K.; Hsiao, C. Eudragit RL and RS Pseudolatexes; Properties and Performance in Pharmaceutical Coating as a Controlled Release Membrane for Theophylline Pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989, 15 (2), 187—196.
60. Okhamafe, A. O.; York, P. Effect of Solids-Polymer Interactions on the Properties of Some Aqueous-Based Tablet Film Coating Formulations. II. Mechanical Characteristics. *Int. J. Pharm.* 1984, 22, 273—281.
61. Okhamafe, A. O.; York, P. Relationship Between Stress, Interaction and the Mechanical Properties of Some Pigmented Tablet Coating Films. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11 (1), 131—146.
62. Petereit, H. -U.; Assmus, M.; Lehmann, K. Glyceryl Monostearate as a Glidant in Aqueous Film-Coating Formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1995, 41 (4), 219—228.
63. Porter, S. C. Tablet Coating. *Drug Cosmet. Ind.* 1981, 128 (5), 46—93.
64. Matsuda, Y.; Itooka, T.; Mitsuhashi, Y. Photostability of Indomethacin in Model Gelatin Capsules; Effects of Film Thickness and Concentration of Titanium Dioxide on the Coloration and Photolytic Degradation. *Chem.*

- Pharm. Bull. 1980, 28 (9), 2665—2671.
65. Rowe, R. C. The Prediction of Compatibility/Incompatibility in Blends of Ethyl Cellulose with Hydroxypropyl Methylcellulose or Hydroxypropyl Cellulose using 2-Dimensional Solubility Parameter Maps. *J. Pharm. Pharmacol.* 1986, 38, 214—215.
  66. Nyamweya, N.; Mehta, K. A.; Hoag, S. W. Characterization of the Interactions Between Polymethacrylate-Based Aqueous Polymeric Dispersions and Aluminum Lakes. *J. Pharm. Sci.* 2001, 90, 1—11.
  67. Lehmann, K.; Rothgang, G.; Bossler, H.; Dreher, D.; Peterreit, H. U.; Liddiard, C.; Weisbrod, W. Practical Course in Lacquer Coating; Rohm Pharma, GmbH; Weiterstadt, 1989.
  68. Wong, D. Practical Considerations for Stabilization of Aqueous Colloidal Polymer Dispersions. *Pharm. Tech.* 1997, 21 (May), 38—50.
  69. Felton, L. A.; McGinity, J. W. Influence of Pigment Concentration and Particle Size on Adhesion of an Acrylic Resin Copolymer to Tablet Compacts. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (5), 599—606.
  70. Rowe, R. C. Modulus Enhancement in Pigmented Tablet Film Coating Formulations. *Int. J. Pharm.* 1983, 14, 355—359.
  71. Maul, K. A.; Schmidt, P. C. Influence of Different-Shaped Pigments and Plasticizers on Theophylline Release from Eudragit RS30D and Aquacoat ECD30 Coated Pellets. *STP Pharma Sci.* 1997, 7 (6), 498—506.
  72. Parker, J. W.; Peck, C. E.; Banker, G. S. Effects of Solids-Loading on Moisture Permeability Coefficients of Free Films. *J. Pharm. Sci.* 1974, 63 (1), 119—125.
  73. Lehtola, V.-M.; Heinamaki, J. T.; Nikupaavo, P.; Yliruusi, J. K. The Mechanical and Adhesion Properties of Aqueous-Based Hydroxypropyl Methylcellulose Coating Systems Containing Polydextrose and Titanium Dioxide. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1995, 21 (6), 675—685.
  74. Felton, L. A.; Austin-Forbes, T.; Moore, T. A. Influence of Surfactants in Aqueous-Based Polymeric Dispersions on the Thermo-Mechanical and Adhesive Properties of Acrylic Films. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26 (2), 205—210.
  75. Lehmann, K. The Application and Processing of Acrylic Coatings in Form of Aqueous Dispersions Compared with Organic Solutions. *Acta Pharm. Fenn.* 1982, 91 (4), 225—238.
  76. Lindholm, T.; Lindholm, B.-A.; Niskanen, M.; Koskineniemi, J. Polysorbate 20 as a Drug Release Regulator in Ethyl Cellulose Film Coatings. *J. Pharm. Pharmacol.* 1986, 38, 686—688.
  77. Hanson, W. A. Handbook of Dissolution Testing; Aster Publishing Corporation; Eugene, 1991.
  78. Li, S. P.; Feld, K. M.; Kowarski, C. R. Preparation and Evaluation of Eudragit Acrylic Resin for Controlled Drug Release of Pseudoephedrine Hydrochloride. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1991, 17 (12), 1655—1683.
  79. Goodhart, F. W.; Harris, M. R.; Murthy, K. S.; Nesbitt, R. U. An Evaluation of Aqueous Film-Forming Dispersions for Controlled Release. *Pharm. Tech.* 1984, 8 (Apr), 64—71.
  80. Tan, Y. T. F.; Heng, P. W. S.; Wan, L. S. C. Mixed Polymer Coating for Modified Release from Coated Spheroids. *Pharm. Dev. Technol.* 1999, 4 (4), 561—570.
  81. Li, S. P.; Mehta, G. N.; Buehler, J. D.; Grim, W. M.; Harwood, R. J. The Effect of Film-Coating Additives on the In Vitro Dissolution Release Rate of Ethyl Cellulose-Coated Theophylline Granules. *Pharm. Tech.* 1990, 14 (Mar), 20—24.
  82. Lorck, C. A.; Grunenberg, P. C.; Junger, H.; Laicher, A. Influence of Process Parameters on Sustained-Release Theophylline Pellets Coated with Aqueous Polymer Dispersions and Organic Solvent-Based Polymer Solutions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1997, 43, 149—157.
  83. Munday, D. L.; Fassihi, A. R. Changes in Drug Release Rate; Effect of Stress Storage Conditions on Film Coated Mini-Tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1991, 17 (15), 2135—2143.
  84. Heinamaki, J. T.; Lehtola, V.-M.; Nikupaavo, P.; Yliruusi, J. K. The Mechanical and Moisture Permeability Properties of Aqueous-Based Hydroxypropyl Methylcellulose Coating Systems Plasticized with Polyethylene Glycol. *Int. J. Pharm.* 1994, 112, 191—196.
  85. Obara, S.; McGinity, J. W. Properties of Free Films Prepared from Aqueous Polymers by a Spraying Technique. *Pharm. Res.* 1994, 11 (11), 1562—1567.
  86. Udeala, O. K.; Aly, S. A. S. Degradation Kinetics of Thiamine Hydrochloride in Directly Compressed Tablets. III. Water Vapour Transmission Through Free and Applied Eudragit Films. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989, 15 (11), 1797—1825.
  87. Banker, G. S.; Gore, A. Y.; Swarbrick, J. Water Vapour Transmission Properties of Free Polymer Films. *J. Pharm. Pharmacol.* 1965, 18, 457—466.
  88. Nagai, T.; Obara, S.; Kokubo, H.; Hoshi, N. Application of HPMC and HPMCAS to Aqueous Film Coating of Pharmaceutical Dosage Forms. In *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, 2nd

- Ed.; McGinity, J. W., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 177—225.
89. Baert, L.; Remon, J. P. Water Vapour Permeation of Aqueous Based Ethylacrylate Methylmethacrylate Copolymer Films. *Int. J. Pharm.* 1993, 99, 181—187.
90. Guo, J.-H. Effects of Plasticizers on Water Permeation and Mechanical Properties of Cellulose Acetate: Antiplasticization in Slightly Plasticized Polymer Film. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (13), 1541—1555.
91. Benita, S.; Dor, P.; Aronhime, M.; Marom, G. Permeability and Mechanical Properties of a New Polymer: Cellulose Hydrogen Phthalate. *Int. J. Pharm.* 1986, 33, 71—80.
92. Hatakeyama, T.; Quinn, F. X. *Thermal Analysis. Fundamentals and Applications to Polymer Science*; John Wiley & Sons, Ltd.; Chichester, 1994.
93. O'Donnell, P. B.; McGinity, J. W. Mechanical Properties of Polymeric Films Prepared From Aqueous Polymeric Dispersions. In *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, 2nd Ed.; McGinity, J. W., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1997; 517—548.
94. Okhamafe, A. O.; York, P. The Glass Transition in Some Pigmented Polymer Systems Used for Tablet Coating. *J. Macromol. Sci. Phys.* 1984—1985, B23 (4—6), 373—382.
95. Okhamafe, A. O.; York, P. Thermal Characterization of Drug/Polymer and Excipient/Polymer Interactions in Some Film Coating Formulations. *J. Pharm. Pharmacol.* 1989, 41, 1—6.
96. Hjartstam, J.; Borg, K.; Lindstedt, B. The Effect of Tensile Stress on Permeability of Free Films of Ethyl Cellulose Containing Hydroxypropyl Methylcellulose. *Int. J. Pharm.* 1990, 61, 101—107.
97. Dittgen, M. Relationship Between Film Properties and Drug Release from Acrylic Films. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985, 11 (Feb-Mar), 269—279.
98. Lin, S.-Y.; Lee, C.-L.; Lin, Y.-Y. Drug-Polymer Interaction Affecting the Mechanical Properties, Adhesion Strength and Release Kinetics of Piroxicam-Loaded Eudragit E Films Plasticized with Different Plasticizers. *J. Control. Release* 1995, 33, 375—381.
99. Rowe, R. C. The Cracking of Film Coatings on Film-Coated Tablets—A Theoretical Approach with Practical Implications. *J. Pharm. Pharmacol.* 1981, 33, 423—426.
100. Guo, J.-H.; Robertson, R. E.; Amidon, G. L. Influence of Physical Aging on Mechanical Properties of Polymer Free Films: The Prediction of Long-Term Aging Effects on the Water Permeability and Dissolution Rate of Polymer Film-Coated Tablets. *Pharm. Res.* 1991, 8 (12), 1500—1504. 101.
101. Rowe, R. C. Microindentation—A Method for Measuring the Elastic Properties and Hardness of Films on Conventionally Coated Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 310—311. 102.
102. Bodmeier, R.; Paeratakul, O. Dry and Wet Strengths of Polymeric Films Prepared from an Aqueous Colloidal Polymer Dispersion, Eudragit RS30D. *Int. J. Pharm.* 1993, 96, 129—138.
103. Gibson, S. H. M.; Rowe, R. C.; White, E. F. T. The Mechanical Properties of Pigmented Tablet Coating Formulations and Their Resistance to Cracking. II. Dynamic Mechanical Measurement. *Int. J. Pharm.* 1989, 50, 163—173.
104. Aulton, M. E.; Abdul-Razzak, M. H. The Mechanical Properties of Hydroxypropylmethylcellulose Films Derived from Aqueous Systems. Part 2; The Influence of Solid Inclusions. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1984, 10 (4), 541—561.
105. Obara, S.; McGinity, J. W. Influence of Processing Variables on the Properties of Free Films Prepared from Aqueous Polymeric Dispersions by a Spray Technique. *Int. J. Pharm.* 1995, 126, 1—10. 106.
106. Lin, S. Y.; Lee, C. J.; Lin, Y. Y. The Effect of Plasticizers on Compatibility, Mechanical Properties, and Adhesion Strength of Drug-Free Eudragit E Films. *Pharm. Res.* 1991, 8, 1137—1143.
107. Hutchings, D.; Clarkson, S.; Sakr, A. Studies of the Mechanical Properties of Free Films Prepared Using an Ethylcellulose Pseudolatex Coating System. *Int. J. Pharm.* 1994, 104, 203—213.
108. Gutierrez-Rocca, J. C.; McGinity, J. W. Influence of Aging on the Physical-Mechanical Properties of Acrylic Resin Films Cast from Aqueous Dispersions and Organic Solutions. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (3), 315—332.
109. Wu, C.; McGinity, J. W. Influence of Relative Humidity on the Mechanical and Drug Release Properties of Theophylline Pellets Coated with an Acrylic Polymer Containing Methylparaben as a Non-traditional Plasticizer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 50, 277—284.
110. Porter, S. C. The Effect of Additives on the Properties of an Aqueous Film Coating. *Pharm. Tech.* 1980, 4 (Mar), 67—75.
111. Maganti, L.; Celik, M. Compaction Studies on Pellets; II. Coated Pellets. *Int. J. Pharm.* 1994, 103, 55—67.
112. Bodmeier, R. Tableting of Coated Pellets. *Eur. J.*



- Pharm. Biopharm. 1997, 43, 1-8.
113. Aulton, M. E.; Dyer, A. M.; Khan, K. A. The Design of a Controlled-Release Drug Delivery System for Ibuprofen in the Form of a Tablet Comprising Compacted Polymer-Coated Millispheres. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1994, 20 (20), 3069-3104.
  114. Felton, L. A.; Shah, N. H.; Zhang, G.; Infeld, M. H.; Malick, A. W.; McGinity, J. W. Compaction Properties of Individual Non-pareil Beads Coated with an Acrylic Resin Copolymer. *STP Pharma. Sci.* 1997, 7 (6), 457-462.
  115. Bechard, S. R.; Leroux, J. C. Coated Pelletized Dosage Form: Effect of Compaction on Drug Release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1992, 18 (18), 1927-1944.
  116. Lopez-Rodriguez, F. J.; Torrado, J. J.; Torrado, S.; Escamilla, C.; Cadorniga, R.; Augsburg, L. L. Compression Behavior of Acetylsalicylic Acid Pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19 (12), 1369-1377.
  117. Felton, L. A.; McGinity, J. W. Adhesion of Polymeric Films to Pharmaceutical Solids. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1999, 47 (1), 1-14.
  118. Okhamafe, A. O.; York, P. The Adhesion Characteristics of Some Pigmented and Unpigmented Aqueous-Based Film Coatings Applied to Aspirin Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1985, 37, 849-853.
  119. Felton, L. A.; McGinity, J. W. Influence of Tablet Hardness and Hydrophobicity on the Adhesive Properties of an Acrylic Resin Copolymer. *Pharm. Dev. Technol.* 1996, 1 (4), 381-389.
  120. Rowe, R. C. A Reappraisal of the Equations Used to Predict the Internal Stresses in Film Coatings Applied to Tablet Substrates. *J. Pharm. Pharmacol.* 1983, 35, 112-113.
  121. Okutgen, E.; Hogan, J. E.; Aulton, M. E. Quantitative Estimation of Internal Stress Development in Aqueous HPMC Tablet Film Coats. *Int. J. Pharm.* 1995, 119, 193-202.
  122. Wood, J. A.; Harder, S. W. The Adhesion of Film Coatings to the Surfaces of Compressed Tablet. *Can. J. Pharm. Sci.* 1970, 5 (1), 18-23.
  123. Fisher, D. G.; Rowe, R. C. The Adhesion of Film Coatings to Tablet Surfaces—Instrumentation and Preliminary Evaluation. *J. Pharm. Pharmacol.* 1976, 28, 886-889.
  124. Rowe, R. C. The Adhesion of Film Coatings to Tablet Surfaces—The Effect of Some Direct Compression Excipients and Lubricants. *J. Pharm. Pharmacol.* 1977, 29, 723-726.
  125. Lehtola, V.-M.; Heinamaki, J. T.; Nikupaavo, P.; Yliruusi, J. K. Effect of Some Excipients and Compression Pressure on the Adhesion of Aqueous-Based Hydroxypropyl Methylcellulose Film Coatings to Tablet Surface. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1995, 21 (12), 1365-1375.
  126. Fung, R. M.; Parrott, E. L. Measurement of Film-Coating Adhesiveness. *J. Pharm. Sci.* 1980, 69 (4), 439-441.
  127. Nadkarni, P. D.; Kildsig, D. O.; Kramer, P. A.; Banker, G. S. Effects of Surface Roughness and Coating Solvent on Film Adhesion to Tablets. *J. Pharm. Sci.* 1975, 64, 1554-1557.
  128. Rowe, R. C. Adhesion of Film Coatings to Tablet Surfaces—A Theoretical Approach Based on Solubility Parameters. *Int. J. Pharm.* 1988, 41, 219-222.
  129. Felton, L. A.; McGinity, J. W. Influence of Plasticizers on the Adhesive Properties of an Acrylic Resin Copolymer to Hydrophilic and Hydrophobic Tablet Compacts. *Int. J. Pharm.* 1997, 154, 167-178.
  130. Okutgen, E.; Hogan, J. E.; Aulton, M. E. Effects of Tablet Core Dimensional Instability on the Generation of Internal Stresses Within Film Coats. Part 1. Influence of Temperature Changes During the Film Coating Process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1991, 17 (9), 1177-1189.
  131. Rowe, R. C. The Adhesion of Film Coatings to Tablet Surfaces—A Problem of Stress Distribution. *J. Pharm. Pharmacol.* 1981, 33, 610-612.
  132. Rowe, R. C.; Forse, S. F. The Effect of Polymer Molecular Weight on the Incidence of Film Cracking and Splitting on Film Coated Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.* 1980, 32, 583.
  133. Rowe, R. C.; Upjohn, N. G. An Expert System for the Identification and Solution of Film-Coating Defects. *Pharm. Tech.* 1993, 5 (Sep), 130-138.
  134. Signorino, C. A.; Forcellini, L. J. Evaluating the Uniformity of Aqueous Film Coating. *Pharm. Tech.* 1996, 20, (Suppl.) 48-53.
  135. Rowe, R. C. Defects in Film-Coated Tablets: Aetiology and Solutions. In *Advances in Pharmaceutical Sciences*; Ganderton, D., Jones, T. Eds.; Academic Press: London, 1992; Vol. 6, 65-99.
  136. Lin, S. Y.; Perng, R. I. Solid-State Interaction Studies of Drugs/Polymers. I. Indomethacin/Eudragit E, RL or S Resins. *STP Pharma. Sci.* 1993, 3 (6), 465-471.
  137. Okhamafe, A. O.; York, P. Studies on Interaction Phenomena in Aqueous-Based Film Coatings Containing Soluble Additives Using Thermal Analysis Techniques. *J. Pharm. Sci.* 1988, 77 (5), 438-443.

K

138. Sarisuta, N.; Kumpugdee, M.; Muller, B. W.; Puttipatkhachorn, S. Physico-chemical Characterization of Interactions Between Erythromycin and Various Film Polymers. *Int. J. Pharm.* 1999, 186, 109—118.
139. Rowe, R. C.; Forse, S. F. Pitting—A Defect on Film-Coated Tablets. *Int. J. Pharm.* 1983, 17, 347—349.
140. Schmid, S.; Muller-Goymann, C. C.; Schmidt, P. C. Interactions During Aqueous Film Coating of Ibuprofen with Aquacoat ECD. *Int. J. Pharm.* 2000, 197, 35—39.
141. Porter, S. C. Use of Opadry, Sureteric, and Surelease for the Aqueous Film Coating of Pharmaceutical Oral Dosage Forms. In *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, 2nd Ed.; McGinity, J. W., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 327—372.
142. Murthy, K. S.; Enders, N. A.; Mahjour, M.; Fawzi, M. B. A Comparative Evaluation of Aqueous Enteric Polymers in Capsule Coatings. *Pharm. Tech.* 1986, 10 (Oct), 36—46.
143. Thoma, K.; Oschmann, R. Investigations of the Permeability of Enteric Coatings. Part 5: Pharmaceutical Technological and Analytical Studies of Enteric-Coated Preparations. *Pharmazie* 1991, 46, 278—282.
144. Osterwald, H. P. Experience with Coating of Gelatin Capsules with Driacoater and WSG Apparatus, Especially Rotor WSG. *Acta Pharm. Technol.* 1982, 28, 329—337.
145. Ali, M. S.; Sheldon, R. P. Structural Changes in Glassy Polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* 1970, 14, 2619—2628.
146. Delporte, J. P. Effects of Aging on Physico-chemical Properties of Free Cellulose Acetate Phthalate Films. *Pharm. Ind.* 1979, 41 (10), 984—990.
147. Sinko, C. M.; Yee, A. F.; Amidon, G. L. The Effect of Physical Aging on the Dissolution Rate of Anionic Polyelectrolytes. *Pharm. Res.* 1990, 7 (6), 648—653.
148. Guo, J. -H.; Robertson, R. E.; Amidon, G. L. An Investigation into the Mechanical and Transport Properties of Aqueous Latex Films: A New Hypothesis for Film-Forming Mechanism of Aqueous Dispersion System. *Pharm. Res.* 1993, 10 (3), 405—410.

(赵 铁 周明眉 译)

# 口服固体制剂的熔融工艺

Paul W. S. Heng

Tin Wui Wong

National University of Singapore, Singapore

## 引言

由于采用特殊工艺避免了水和有机溶剂,在药物固体制剂设计中加入可熔融材料变得越来越普遍。其应用已经扩展到口服和非胃肠道给药的固体分散体、聚集体、微球、纳米球等方面的工艺。

制备工艺和药物释放性质可能部分或完全受到可熔融材料的物理化学性质的影响。可熔融材料的正确选择对形成的固体制剂的性质和质量有相当大的影响。

## 概况

与常规的湿法技术相比,在制造固体制剂时使用可熔融材料有很多的优点。避免使用水溶液可以使熔融技术适合对湿敏感的药物,同时也可以避免在处理泡腾和易吸湿性材料时使用易燃的有机溶剂,因此可以减少防燃设施和溶剂回收装置所需的投资。由熔融技术制造的物质不需要溶剂回收或干燥过程,整个工艺时间更短。通过适当地选择可熔融材料,可以制备速释和缓释的固体制剂。因此,药物的释放速率可以通过改变可熔融材料的组成来控制。

由于温度升高,熔融技术最明显的缺点就是该工艺不能应用于热敏感物质。尽管熔融物的温度超过了 $100^{\circ}\text{C}$ ,但是嗜酸乳杆菌仍然可以在连续的熔融技术中存活,存活率较传统的湿法技术高<sup>[1]</sup>。湿气会加剧药物的不耐热性。减少湿气会最大限度地减少与热相关的降解。因此我们认为熔融技术加工热敏感材料值得进一步研究。

熔融工艺需要在生产固体制剂时至少加入一种可熔融材料。本章的目的是说明可熔融材料对熔融造丸、熔融制粒、翻转熔融制粒法的影响。对于熔融聚集工艺,通过喷雾凝结法,还讨论了满足可熔融材料工艺特性的方法。

## 简介

熔融和湿法技术的工艺设备有着相似的特点<sup>[2~7]</sup>。熔融技术加工的材料肯定需要加热隔套、隔热装置,高速/高剪切搅拌器、雾化装置。溶解过程同时会伴有颗粒的放大及缩小。使用的材料可能含有一种或多种可熔融成分,也可能是可熔融成分与不可熔融成分的混合物。在后一种混合状态中,不可熔融成分的质量分数会随着固体制剂的设计不同而变化,达 $10\%\sim 90\%$ 。最终产品通常是一步造粒形成颗粒或小丸。

在用熔融工艺设计与开发处方中,多单元的固体制剂受到厂家的欢迎,因为它在改变给药剂量上有高度的灵活性。多单元的固体制剂可以设计成不同的比例,以满足所需的剂量而不用改变每个单元的载药量,从而不需要改变处方和工艺。化学不相容的不同药物单元,或药物相同但释放速度不同单元可以以适当的比例进行混合。根据给药途径相同部位或不同部位,多单元的固体制剂可能会影响药物的释放,并且不大会出现突释。

通过增大粒径的工艺,熔融聚合可以用来产生多单元的固体制剂。当最终粒径分布较宽,介于 $0.1\sim 2\text{mm}$ 时,熔融聚集体称为颗粒。而粒径分布较窄,介于 $0.5\sim 2\text{mm}$ 时,形状呈球形,聚集体就称为小丸。熔融小丸通常作为多微粒的剂型使用,而熔融颗粒可能装胶囊或进一步压片。熔融聚合物的形成和成长过程主要依赖于可熔融材料的物理化学性质,通过喷雾冻结也可以进行改进。与熔融聚集同时需要可熔融和不可熔融成分不同,喷雾冻结法有没有不可熔融成分都可以加工熔融材料。

### 1. 熔融制丸法/熔融造粒法

熔融聚集是将固体小颗粒粘连在一起,在黏合剂的存在下,通过搅拌、揉捏和堆积上细粉形成团块。通过冷却将熔融的黏结液体凝固后即可得到干燥的团块。经典的熔融聚集方法的例子就是熔融制丸法和熔融造粒法。在聚集过程中,聚合物的大小和形状会逐渐发生变化。通常来说是不可能很清楚地地区分颗粒和小丸的。因此当制备高度圆形的粒径分布窄的聚集体,即可认为是制丸工艺。相反,不成功的制丸就被归为造粒。

熔融聚集的装置包括旋转桶或旋转锅、流化床造粒机、低剪切混合器(如Z形桨叶平行混合器)、高剪切混合器。目前,最普遍的工业规模化生产的聚集物设备是高剪切混合机和流化床造粒机。两者都能在制备过程中逐渐形成聚集体。它们的明显区别在于流化床工艺缺少剪切力,而高速剪切中产生相当高的剪切力。

在熔融聚集过程中,可熔融的黏合剂可以是熔融液体或干粉或薄片。在后面两种情况下,黏合剂需要在热气流或加热隔套中加热至超过其自身熔点。或者,熔融聚集过程可以采用一种高速剪切混合器的极高剪切输入,其中仅由摩擦力产生的热会提高黏合剂的温度达到实现熔融。聚乙二醇、脂肪酸、脂肪醇、蜡质和甘油酯是一些黏合剂的例子。当需要亲水性黏合剂时通常使用可熔融的聚乙二醇,而脂肪酸、脂肪醇、蜡质和甘油酯通常用于不溶于水的产品的可熔融黏合。一般,可熔融黏合剂的熔点在 $50\sim 80^{\circ}\text{C}$ 。低熔点的黏合

K

剂在处理和储存聚集体时会发生黏合剂熔化和软化的危险。高熔点的黏合剂需要高的熔化温度,从而产生不稳定的问题,尤其是对一些热不稳定的物料。

为了评价可熔融材料在熔融聚集体的形成和成长工艺中的影响,我们有必要对熔融聚集过程有一个彻底的了解。熔融聚集的机理与湿法聚集相似。聚集体的成长受到液体在聚集体孔隙结构中饱和度的影响。但是,熔融聚集体的形成与成长并不会因在聚集过程中黏合液蒸发失去而变复杂。聚集机理可以分为成核、合并、上细粉(图1)。相信这些机理共同组成一套复杂的基本过程,直接或间接地影响了聚集体的形成和成长。小颗粒主要是成核,在黏合剂的帮助下,一些最初的固体颗粒合并在一起,形成了一个气-固-液的疏松的三相体系,最终导致初始晶核的形成。颗粒通过液体粘连在一起形成钟摆状态(图2)。更大聚集体的形成在成功的随机核内碰撞下产生,该过程称为合并。合并是表面残留有液体的晶核,促进晶核的成功融合。表面液体将可塑性传导给晶核,使得核表面变形合并和促进聚集体的圆滑是非常必要的。表面液体在增加黏合液或稠化下会增加太多,稠化是因为在机械力下将聚合物内部的液体挤至其表面(图2)。在合并过程中,晶核通过液体桥接的状态由钟摆状通过索状最后变成毛细管状。细颗粒可能在粒径增大过程中随机碰撞产生。这些颗粒可能在成形的晶核上上细粉。或者,细颗粒可以通过加入干粉或熔融物料补充,附在成形的晶核上,晶核比加入物料大很多数量级,从而通过上细粉过程促进粒径的增大。

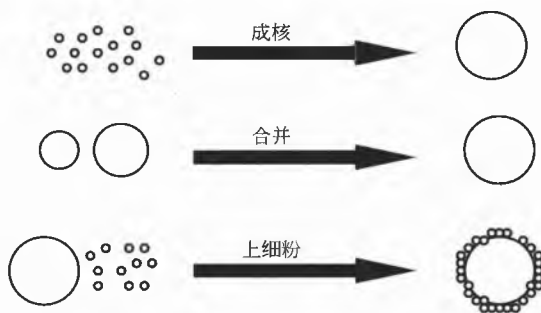


图1 聚集机理

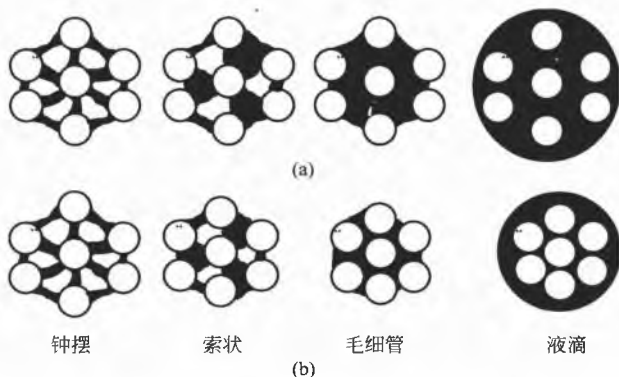


图2 聚集体的液体桥接状态。(a) 加入桥接液体; (b) 稠化

两种熔融聚集模式都基于所提出的基本原理——分布与浸没<sup>[8]</sup>。在分布模式下的聚集,会在原始颗粒表面分布熔融的黏合液,聚集体通过湿润晶核的合并而形成(图3)。在浸没模式下的聚集,晶核由原始颗粒浸没在熔融的黏合剂液滴上形成(图3)。熔融的黏合液在晶核表面的分布主要受到晶核间合并导致的稠化影响。根据固体颗粒和熔融的黏合液滴之间相对的粒径大小,当熔融的黏合液滴比固体颗粒小或大小相当时,分布会是占主导地位的模式。另外,当熔融的黏合液滴比固体颗粒大时,浸没会是占主导地位的模式。低黏度的熔融黏合剂会促进分布模式。而对于浸没模式,高黏度的熔融黏合剂会更适合,因为它可以防止分散力的破坏。

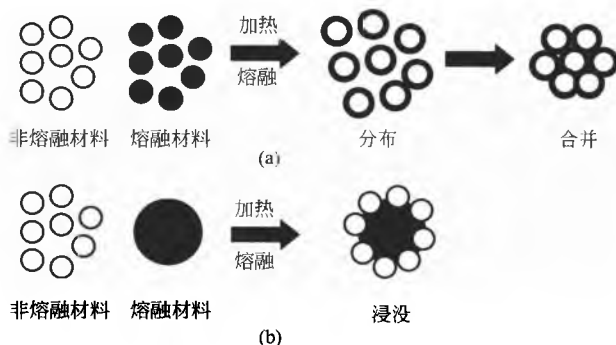


图3 熔融聚集模式。(a) 分布; (b) 浸没

由浸没模式生成的熔融聚集体,其初始聚集速度小于分布模式的。在熔融聚集的初始阶段,由高黏度熔融黏合剂的大液滴所合并的聚集体的表面弹性很低。这说明通过合并形成熔融聚集的成长趋势减慢了。但是,通过延长工艺时间或使用高转速,聚集体可以获得相当大的表面湿度可变形性。由于这些聚集体的表面被高黏度的熔融黏合液所湿润,其成长的倾向会逐渐增大,同时,也变得不可控制。可熔融黏合剂可以是薄片、粉末或细粉。实际上,熔融聚集过程很少依赖于可熔融黏合剂的颗粒大小,除非使用黏度非常高的黏合剂<sup>[8~10]</sup>。

在熔融聚集过程中,液体的饱和状态必须接近高黏度熔融黏合剂的液滴状态,可以充分变形,使聚集体能通过合并成长。过于润湿和不可控制的聚集体的成长风险很高。使用高速搅拌速度防止不可控的聚集体的成长,以确保连续的分散<sup>[11]</sup>。与湿法聚集过程不同,熔融聚集过程不能通过蒸发的方法来除去过多的表面液体。但是,在熔融聚集过程中,将固体水合物中的结晶水蒸发会使聚合体的成长变得更加可控,除去结晶水后,黏合液会被吸收进入聚合体表面形成的小孔中从而减小表面湿度<sup>[12]</sup>。

设想使用高黏度熔融黏合剂的熔融聚集也能通过使用合适几何形状的桨叶得到控制<sup>[13]</sup>,该桨叶可以产生高的相对波及体积或剪切能量,以及由具有较低机械强度易破碎的聚集体形成的大固体颗粒<sup>[14]</sup>,同时,也可以通过保持桨叶离容器底的距离来控制,该距离在有限的范围内严重影响加工材料的流体动力学性质<sup>[15]</sup>。间接地说,熔融聚集可

能受到工艺中的能量消耗实时监控的影响,这是聚集的工作负荷指标<sup>[16,17]</sup>。

表1列举了一些以前用于熔融聚集的可溶性黏合剂。这些可熔黏合剂在熔距、亲水-亲油性和分子大小上都不不同。熔融黏合液的黏度被确定为可熔黏合剂的核心特性,它与熔融聚集的过程有着很密切的关联。亲脂性可熔黏合剂,如硬脂酸,在70~90℃的熔融温度下黏度低于50mPa·s,熔融聚集过程很明显取决于合并与聚集破坏的平衡<sup>[18]</sup>。使用非常低黏度的可熔融黏合剂,碾压和上细粉很可能是与合并同时发生的占主导地位的成长机理。低黏度时熔融聚集很容易受到破裂的影响。与那些使用高黏度可熔融黏合剂制成的聚集物相比,通常更小而粒径分布更广,更多孔且很少成圆形。

表1 熔融聚集工艺中的熔融黏合剂的种类

熔程/℃	
亲水性可熔融黏合剂	
Gleucire 50/13	35~44
泊洛沙姆 188	~50.9
聚乙二醇	
2000	42~53
2000	48~63
6000	49~63
8000	54~63
10000	57~64
20000	53~66
硬脂酸 6000 WL 1644	46~58
疏水性可熔融黏合剂	
蜂蜡	56~60
巴西棕榈蜡	75~83
棕榈酸十六醇酯	47~50
山嵛酸甘油酯	67~75
单硬脂酸甘油酯	47~63
棕榈酸硬脂酸甘油酯	48~57
硬脂酸甘油酯	54~63
氢化蓖麻油	62~68
微晶蜡石蜡	58~72
石蜡	47~65
硬脂酸	46~69
硬脂醇	56~60

## 2. 翻转熔融制粒

有人报道了一种更新的熔融聚集技术,如翻转熔融制粒,可制备圆形小珠<sup>[19~21]</sup>。可熔融物与不可熔融物的粉末混合物加到流化床造粒机的晶种上(图4)。为了形成圆形小珠,混合物通过熔融固体的黏合力黏附在晶种上。在制备圆形小珠时,可熔融物的黏度和粒径大小应保持在最佳

值。可熔融物的颗粒大小应不大于晶种直径的1/6。应该避免使用高黏度的可熔融物,这样可以避免晶种的聚集和减少产生低圆整度的小珠。

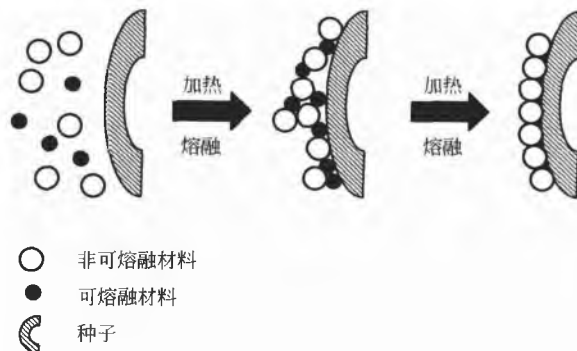


图4 翻转熔融制粒工艺

可熔融物颗粒大小和黏度在熔融聚集工艺中都起着重要的作用。对于熔融聚集过程的控制最好在一开始就使用可控性的可熔融物。对于熔融法和熔融制粒法,我们希望可熔融物具有高黏度来改善聚集体的机械强度,但希望减少粒径来防止不可控的聚集集体成长。在翻转熔融制粒中,具有足够黏结力的可熔融小颗粒对于圆形小珠的制备是必须的。

## 3. 喷雾冻结法

喷雾冻结法是一种具有广泛用途的熔融技术。除了生产多颗粒给药系统外<sup>[22,23]</sup>,它可以用来将可熔融原料制成具有一定大小和黏度的颗粒,用于熔融聚集工艺。熔融物的喷雾冻结过程是在可熔融物的熔点下或在低温下将热融的蜡质、脂肪酸或甘油酯喷雾进入腔体。在冷却后可以得到喷雾冻结的颗粒(直径为10~3000μm)。由于没有溶剂蒸发,喷雾冻结的颗粒强韧并且是无孔隙的。理想的可熔融物应该具有确定的熔点和很窄的熔距。在工艺温度下,不管是可熔融或不熔融的黏度调节剂,都可加到熔融骨架中以改变熔融小珠的黏稠性。

## 结论

熔融物的黏度和颗粒大小会严重影响熔融聚集物的成形工艺。因此,其大小、大小分布、形状和机械强度同样也会受到影响,从而使我们对研究设计适合特殊熔融过程所需性质的可熔融物产生了更浓厚的兴趣。为了设计和生产所需颗粒大小和黏度级别的可熔融物,喷雾冻结法是非常有潜力的技术,可以在工业化中应用和发展。而随着近期人们对控释固体剂型的熔融小丸逐渐产生兴趣,喷雾冻结技术有望得到更广泛的应用。

## 参考文献

1. Appelgren, C.; Eskilson, C. A novel method for the granulation and coating of pharmacologically active substances. Drug

- Dev. Ind. Pharm. 1990, 16 (15), 2345—2351.
2. Chambliss, W. G. Conventional and Specialized Coating Pans. In *Pharmaceutical Pelletization Technology*; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; Vol. 37, 15—38.
3. Olsen, K. W. Fluid Bed Equipment. In *Pharmaceutical Pelletization Technology*; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; Vol. 37, 39—69.
4. Goodhart, F. W. Centrifugal Equipment. In *Pharmaceutical Pelletization Technology*; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; Vol. 37, 101—122.
5. Jones, D. M. Solution and Suspension Layering. In *Pharmaceutical Pelletization Technology*; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; Vol. 37, 145—164.
6. Goodhart, F. W.; Jan, S. Dry Powder Layering. In *Pharmaceutical Pelletization Technology*; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; Vol. 37, 165—185.
7. Killeen, M. J. Spray Drying and Spray Congealing of Pharmaceuticals. In *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; Vol. 14, 207—221.
8. Schæfer, T.; Mathiesen, C. Melt pelletization in a high shear mixer. IX. Effects of binder particle size. *Int. J. Pharm.* 1996, 139, 139—148.
9. Wong, T. W.; Wan, L. S. C.; Heng, P. W. S. Effects of physical properties of PEG 6000 on pellets produced by melt pelletization. *Pharm. Dev. Technol.* 1999, 4 (3), 449—456.
10. Schæfer, T.; Holm, P.; Kristensen, H. G. Melt granulation in a laboratory scale high shear mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16 (8), 1249—1277.
11. Schæfer, T.; Mathiesen, C. Melt pelletization in a high shear mixer. VIII. Effects of binder viscosity. *Int. J. Pharm.* 1996, 139, 125—138.
12. Schæfer, T.; Mathiesen, C. Melt pelletization in a high shear mixer. VII. Effects of product temperature. *Int. J. Pharm.* 1996, 134, 105—117.
13. Schæfer, T.; Taagegaard, B.; Thomsen, L. J.; Kristensen, H. G. Melt pelletization in a high shear mixer. V. Effects of apparatus variables. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1993, 1, 133—141.
14. Johansen, A.; Schæfer, T. Effects of interactions between powder particle size and binder viscosity on agglomerate growth mechanisms in a high shear mixer. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001, 12, 297—309.
15. Heng, P. W. S.; Wan, L. S. C.; Wong, T. W. Effects of offbottom clearance on properties of pellets produced by melt pelletization. *Pharm. Dev. Technol.* 1999, 4 (1), 27—33.
16. Heng, P. W. S.; Wong, T. W.; Shu, J. J.; Wan, L. S. C. A new method for the control of size of pellets in the melt pelletization process with a high shear mixer. *Chem. Pharm. Bull.* 1999, 47 (5), 633—638.
17. Heng, P. W. S.; Wong, T. W.; Chan, L. W. Influence of production variables on the sphericity of melt pellets. *Chem. Pharm. Bull.* 2000, 48 (3), 420—424.
18. Eliassen, H.; Kristensen, H. G.; Schæfer, T. Growth mechanisms in melt agglomeration with a low viscosity binder. *Int. J. Pharm.* 1999, 186, 149—159.
19. Maejima, T.; Osawa, T.; Nakajima, K.; Kobayashi, M. Preparation of spherical beads without any use of solvents by a novel tumbling melt granulation (TMG) method. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45 (3), 518—524.
20. Maejima, T.; Osawa, T.; Nakajima, K.; Kobayashi, M. Application of tumbling melt granulation (TMG) method for preparing controlled release beads coated with hydrogenated castor oil. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45 (5), 904—910.
21. Maejima, T.; Osawa, T.; Nakajima, K.; Kobayashi, M. Effects of species of non-meltable and meltable materials and their physical properties on granulatability in tumbling melt granulation method. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45 (11), 1833—1839.
22. Schwendeman, S. P.; Tobio, M.; Joworowicz, M.; Alonso, M. J.; Langer, R. New strategies for the microencapsulation of tetanus vaccine. *J. Microencapsul.* 1998, 15 (3), 299—318.
23. Passerini, N.; Perissutti, B.; Moneghini, M.; Voinovich, D.; Albertini, B.; Cavallari, C.; Rodriguez, L. Characterization of carbamazepine-gelucire 50/13 micro-particles prepared by a spray-congealing process using ultrasounds. *J. Pharm. Sci.* 2002, 91 (3), 699—707.

(裴 渊 译)

# 口服液体制剂

Jagdish Parasrampur  
Galderma R&D, Cranbury, New Jersey, U. S. A.

## 引言

口服液体制剂可分为水和非水溶液制剂，有溶液、混悬液和乳剂等多种剂型。口服溶液是由一种或多种溶质溶解在合适的溶剂或几种互溶的溶剂混合物中形成的均相体系。在药剂学中，溶液剂定义为：含一种或多种可溶的化学物质的液体制剂，通常溶于水中，且不因成分、制备方法和用途的不同而成为其他制剂<sup>[1]</sup>。可以根据溶液剂的物理性质、制备方法、用途和成分将其分类（表1）<sup>[2]</sup>。由于不同类型的溶液剂的定义有重复的内容，所以它们的区别并不是很明显，因此定义对于某些商品而言并不重要。

表1 口服溶液的分类<sup>[2]</sup>

类型	说明
糖浆剂	含有浓蔗糖或其他糖类的溶液
酏剂	含有酒精作为助溶剂的甜溶液
酊剂	芳香族化合物或挥发性物质的含水乙醇溶液
芳香水剂	芳香族化合物或挥发性物质的水溶液
酊剂	溶解或提取植物或化学物质而制备的含水乙醇溶液
流浸膏剂	通过提取（浸渍、过滤）得到的动植物活性组分的浓醇溶液

## 应用

口服液体制剂应用广泛，有多个原因。患者对口服固体制剂的依从性较差，儿童和老人更甚。这些年龄组吞咽片剂和胶囊有困难，所以他们拒绝服药。而口服液体制剂的使用使这个问题迎刃而解。吞咽有困难的儿童和老人服用口服液体制剂非常方便，因为溶液是均相体系，药物均匀地分散在溶液中。溶液剂可以方便地稀释调整为分次剂量，从而满足患者的需要。提取物省却了药物的提纯步骤，可以同时服用单一来源（如胰腺）的多种组分，可以对天然来源的药物进行初步研究。易潮解和吸湿性强的粉末极易制成液体制剂分发。一些高浓度时难以忍受的药物可用缓和的液体溶解而降低刺激性<sup>[3]</sup>。有时氯化钾等药物溶液可以降低胃肠道中的副作用。由于药物以溶解状态吸收，口服剂型中药物的吸收速率按下列顺序递减：水溶液、水性混悬液、片剂和胶囊剂。溶液剂中的药物能立即在胃肠道中吸收，比相同剂量药物的片剂或胶囊的吸收快速、高效得多。

## 局限性

一般液体介质中药物的稳定性不及固体。对难溶性药物要采用特殊的技术使其溶解。而有时掩盖药物固有的苦味非常困难。低治疗指数的强效药物不能以口服液体剂型给药，因为患者很容易发生剂量误差。此外和所有的口服剂型一样，液体口服制剂不能用于昏迷患者给药。

## 处方设计

口服液体溶液的设计包括药物与其他组分联用以增强药品的可接受性和有效性。进行药用液体的处方设计时必须考虑到以下因素：药物的浓度、药物的溶解性、液体介质的选择、物理化学稳定性、制剂的保存（防腐）以及合适的辅料（如缓冲液、增溶剂、甜味剂、增稠剂、色素和香料等）。

药剂师一般采用三种方法来处理液体制剂<sup>[4]</sup>：分发药品时，药物在原包装容器内；购买大容量包装的产品，分发时再重新分装；也可以混合配置溶液。调配就是将两种已经上市的产品按处方规定进行混合，或向水或非水溶剂中按合乎逻辑且被药剂学认可的方式加入活性物质以制成产品。目前大多数处方中的药物都是以原有容器的形式分发。在这种情况下，药剂师需要制造商提供一种有效的、药剂学能接收的并在推荐条件下稳定储存的产品。大多数药品制造商试图通过一种科学的评价方法来确保其产品的有效性，但有时有效只是相对的。例如，两家厂商生产上市的止咳合剂可能含有相同治疗种类和浓度的活性成分，所以很难评价两者的优劣。在这种情况下，药品的其他性质决定了其商业优势。因此，颜色、气味、味道、可倾倒性和均匀性也是药品的重要性质。成功的液体和其他剂型的处方设计需要考虑到科学和药学两方面的敏锐度<sup>[5]</sup>。

### 1. 溶解性

在开发口服液体制剂时，必须首先考虑药物的溶解性。药物和其他溶解物质在产品的保存期限内应维持溶解状态。因此药物在溶液中应以非饱和状态存在，否则药物会随温度改变和溶液中存在的其他物质或组分的晶种作用而析出结晶。有机药物的味道与其水溶性直接相关<sup>[6]</sup>。例如，增加克林霉素酯的链长（降低水溶性）可以明显改善药物的味道<sup>[7]</sup>。

测定冷藏温度下（2~8℃）的溶解度对确定2~25℃下药品的可用浓度（无饱和溶液和晶体的形成）十分重要。这也是确定正常分发过程中药品储存的较宽的温度范围必

不可缺的步骤。如果没有确定药物精确的溶解度，也可以采用相对溶解度来描述。美国药典（USP）定义了相对溶解度的有关术语，见表 2<sup>[8]</sup>。

表 2 USP 溶解度术语<sup>[2]</sup>

术语	溶解 1 份溶质所需溶剂的量/份
极易溶解	<1
易溶	1~10
溶解	10~30
略溶	30~100
微溶	100~1000
极微溶	1000~10 000
几乎不溶或不溶	>10 000

药物的溶解性很大程度上取决于溶剂的极性，极性可以用偶极距表示，与介电常数有关。介电常数较大的溶剂在离子-偶极作用下易溶解离子化合物（极性药物）；而介电常数较小的溶剂受到偶极或诱导偶极作用（Vander Waalsx、London 或 Debye $\pi$ ）可以溶解疏水性化合物（非极性药物）。图 1 示意了这一原理<sup>[9]</sup>。前者归类为极性溶剂，比如水和甘油；后者归类为非极性溶剂，如油类。介电常数中等的溶剂归为半极性溶剂。一些溶剂的介电常数见表 3<sup>[8]</sup>。

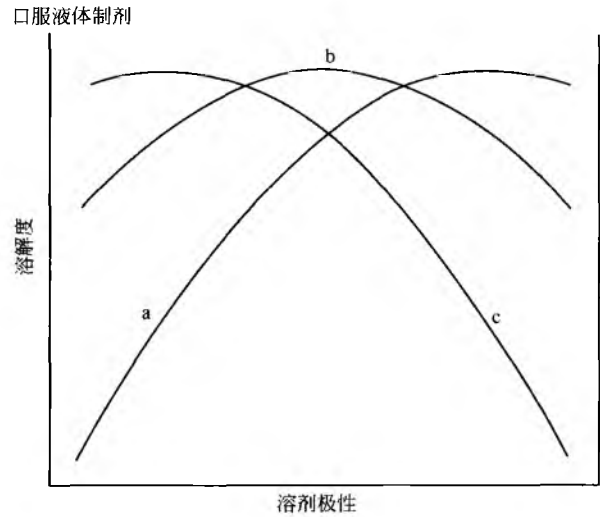


图 1 溶剂极性对药物溶解度的影响<sup>[9]</sup>  
a. 极性药物；b. 半极性药物；c. 非极性药物

表 3 25℃ 时溶剂的介电常数<sup>[8]</sup>

溶剂	介电常数
水	78.5
甘油	40.1
乙醇	24.3
正丙醇	20.1
苯甲醇	13.1
PEG 400	12.5
棉籽油	3.0

物质经常以多种晶型存在，比如氯霉素、脱氢异雄酮（DHEA）、孕甾酮、磺胺噻唑、肾上腺皮质激素和氢化泼尼松等。多晶型转化是由固态分子排序不同造成的结构差异。

## 2. 增溶技术

有时由于药物的水溶性较差，在液体制剂中无法达到预期的药物浓度。而增溶则是水溶性较差物质的表观溶解度增大的过程。增溶技术包括加入潜溶剂、成盐、设计前体药物、络合、降低粒子大小和使用表面活性剂（形成胶束）等。表 4 比较了不同增溶技术的增溶效果<sup>[9]</sup>。

表 4 药物增溶技术的比较<sup>[9]</sup>

方法	溶解度增加的大致倍数	参考文献
加入潜溶剂	1~1000	[10]
成盐	1~1000	[11]
设计前体药物	1~1000	[12]
络合	1~100	[13]
胶束化	1~50	[14]

### 2.1 潜溶

潜溶剂是指液体药物制剂中用以增加水溶性较差物质的溶解度且可以与水互溶的有机溶剂。潜溶即指使用潜溶剂的技术。新药的溶液剂处方中对潜溶剂的需求依然很大，尤其是结构越来越复杂的有治疗作用的药物。已经报道了肽类药物处方中使用潜溶剂的重要性<sup>[14]</sup>。

潜溶能有效增加药物的溶解度。其优点是简单且能显著提高药物的溶解度。过去由于对大多数非极性药物优良的溶解性以及口味易于接受，乙醇一直是口服制剂中最常使用的溶剂，但它并不适用于儿科患者的制剂。乙醇可能会加重离子型溶质的苦味<sup>[15]</sup>。山梨醇、甘油、丙二醇和一些聚乙二醇是口服溶液处方中实用且能够接受的潜溶剂。例如，图 2 是阿普唑仑在潜溶剂-水体系中的增溶曲线<sup>[16]</sup>。潜溶剂不仅影响药物的溶解度，而且还能改善产品味道和气味的挥发物质的溶解性。潜溶剂能提高药物溶解性且与水互溶，但它的毒性限制了自身的应用。溶剂的毒理学性质包括全身毒性、靶器官毒性和组织刺激性，这些性质限制甚至导致其不能在药物处方中使用。由于潜溶剂气味难闻，味道不佳，即使有的相对无毒，也很少以单一组分或 100% 溶剂量入药。潜溶剂能提高药物的溶解性，同时它也可能影响处方中极性物质或离子化合物（如缓冲物质）的溶解性。

早期使用潜溶剂的处方研究工作是基于经验选择潜溶剂的种类和用量。引入混合法后，可以根据实验处方或溶解度资料改进处方。Moor<sup>[17]</sup>报道了一种方法，利用纯的和混合溶剂的近似介电常数。基本的假设是，所有具有相同介电常数的溶剂对于给定药物的增溶程度是相同的。然而，介电常数本身难以预测药物的溶解程度。Rubino<sup>[9]</sup>介绍了各种机理和方程，目的是建立对药物溶解行为的基本理解，建立解释和预测药物溶解行为的数学方法。



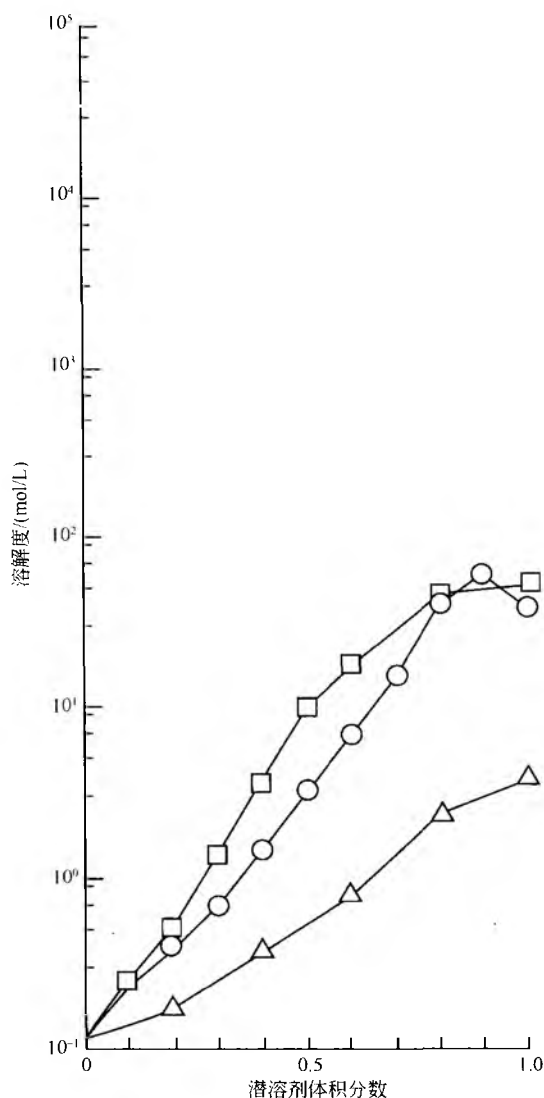


图2 阿普唑仑在乙醇(□)、丙二醇(○)和甘油(△)中的溶解度<sup>[16]</sup>

## 2.2 成盐

很多难溶于水的药物的盐溶解度较大<sup>[18]</sup>。化合物 $\alpha$ -(2-哌啶基)- $\beta$ -3, 6-双(三氟甲基)-9-菲甲醇是一种抗疟疾药, 它和它的盐酸盐在水中都是微溶的, 而乳酸盐的溶解度却约为盐酸盐的200倍。乳酸盐的熔点降低, 表明其晶格能下降, 这是乳酸盐水溶性增大的部分原因。如果某种盐的溶解度太大而无法将其分离, 可以在溶液中原位形成所需的溶解度的盐。配制药品溶液时加入合适的酸或碱调节pH可达到上述目的。

## 2.3 前体药物

化学修饰可以改变药物的溶解度特性, 这就是所谓的前体药物法。Albert<sup>[19]</sup>在描述一种发挥药理作用之前经历生物转化的化合物时首次使用了这一术语。这种方法成功

地用于皮质类固醇药物, 例如, 倍他米松在25℃水中的溶解度是5.8mg/100mL, 而其磷酸酯二钠的溶解度却大于10g/100mL, 增加了1500多倍。虽然成盐或前体药物的方法可以使溶解度有显著的增大, 但这需要合成全新的药物实体, 同时需要做额外的动物试验来确保药物的有效性和安全性, 因此仅在没有其他方法可利用的前提下, 才使用这种方法。

## 2.4 络合

络合也是一种改善不溶性化合物在水中的溶解性的方法, 见式(1):



式中:  $[D]_s$  为溶液中药物的浓度;  $[L]_s$  为溶液中配体的浓度;  $[D_n : L_m]_s$  为药物-配体络合物溶液的浓度。

络合物是两个分子, 如药物和增溶剂(配体), 通过较弱的力(如偶极-偶极作用或氢键)结合形成的一种实体。药物和配体分子中的一个能接受电子, 而另一个则必须给出电子, 这样才能发生络合。

络合有许多优点, 比如相互作用的可逆性等。稀释时络合物可以快速自发解体形成单体。因此可以根据单体的药理学性质来预测络合物的生物效应。络合物的另外一项优势是体系的可预测性和物理稳定性。由于复合物的生成是一种平衡状态, 所以一旦确定了描述体系所需的参数, 如稳定常数和复合物的溶解特性, 体系行为就完全可预计并可再现。这与热力学不稳定的多晶型和其他晶型修饰不同, 后者是热力学不稳定的体系, 会随时间发生变化, 并可导致其溶解性的改变。

络合的缺点是配体的摩尔比往往等于或高于药物的摩尔比, 但是它的味觉或药理作用可能不为人所接受。处方设计时必须要考虑配体同辅料间的不利作用。另外络合所引起的表观溶解度的提高往往比其他技术小一个数量级。

## 2.5 胶束化

McBain是这样定义胶束化的: 胶束化是难溶于水的溶质分子自发进入肥皂水或清洁剂溶液中的过程, 并形成一种热力学稳定的溶液<sup>[20]</sup>。科学家们对这一现象的机理进行了广泛的研究, 其中包括对形成胶体聚集体(即胶束)的表面活性物质性质的研究。当表面活性剂加入到溶液中形成低浓度溶液时, 有定位于气-液界面的趋势。继续加入表面活性剂, 界面完全被表面活性剂分子占据, 多余的分子被迫进入液体内部。浓度继续增高, 液体内部的表面活性剂分子开始形成定向聚集体或胶束。定向聚集是瞬时发生的, 发生定向聚集时表面活性剂的浓度即为临界胶束浓度(CMC)。溶质进入或吸附到胶束上从而实现了增溶。因此达到临界胶束浓度时, 表面活性剂溶液可以溶解或增溶难溶于水的物质, 这种能力随胶束浓度的增高而增大。

研究表明亲水-亲脂平衡值(HLB)大于15的亲水表面活性剂是最适增溶剂。通常制剂中使用的增溶剂有聚氧

## K

乙烯山梨醇脂肪酸酯（吐温类）、聚氧乙烯烷基醚（卜泽和卖泽类）和山梨醇脂肪酸酯（司盘系列）等。增溶剂的选择基于相-溶解度的研究，该项研究中药物的溶解度是表面活性剂浓度的函数，研究中使用多种表面活性剂。要根据其作为增溶剂的效力及对药品其他性质和处方中辅料的作用来选择合适的增溶剂。

## 稳定性

通常药物在液体介质中没有在固体剂型中稳定。作为一种剂型，口服液体制剂的组成要比注射剂复杂得多，且其组分间更易发生相互作用，影响产品稳定性。研究者不仅要考虑药物溶液的稳定性，而且也要考虑着色剂、矫味剂、防腐剂、增溶剂、增稠剂和甜味剂等辅料对稳定性的影响。

### 1. 化学稳定性

预测均匀药物体系化学稳定性的技术已经有了详细的介绍<sup>[21,22]</sup>。药剂师在选择口服液体制剂最适 pH 时，应该既要考虑到 pH-溶解度曲线又要考虑到 pH-稳定性曲线。例如，图 3 和图 4 分别表示了酰唑胺的 pH-稳定性和 pH-溶解度曲线，最稳定 pH 接近 4。但是由于形成了钠盐，pH 大于 7 溶解性更好。

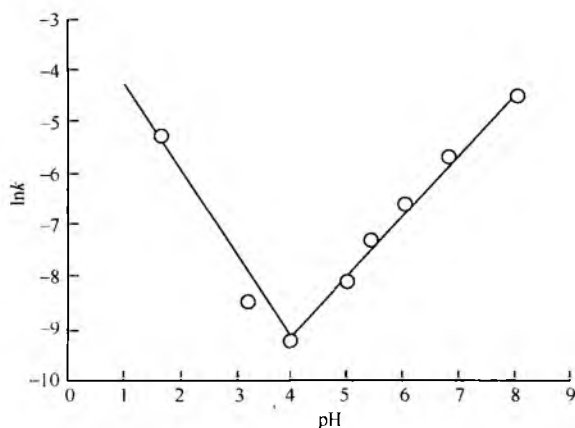


图 3 酰唑胺的 pH-稳定性曲线<sup>[23]</sup>

### 2. 物理稳定性

液体制剂的物理不稳定性包括形成沉淀和不易溶解的多晶体、药物吸附在容器表面、微生物生长和产品外观改变等<sup>[25]</sup>。产品的可接受性是对产品的主观判断，包括颜色、气味、味道和澄明度等性质。染料的稳定性与处方中的

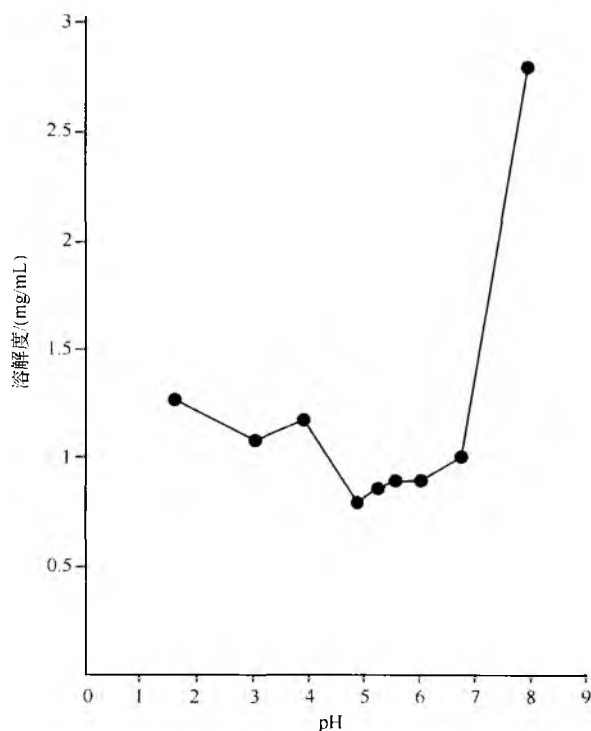


图 4 酰唑胺的 pH-溶解度曲线<sup>[24]</sup>

辅料有关。比如 FD&C 2 号蓝在一些糖（山梨醇、甘露醇、葡萄糖、蔗糖和乳糖等）存在的情况下褪色更快。此外痕量的杂质和非离子表面活性剂（如 Pluronic F68）也会加速其褪色<sup>[26,27]</sup>。

有证据表明防腐剂能与大分子结合<sup>[28]</sup>。例如，尼泊金甲酯和尼龙的结合与尼龙膜的尺寸和游离尼泊金甲酯的浓度有关。尼泊金甲酯与吐温 80 的络合与游离的尼泊金酯和吐温 80 的浓度有关。据报道尼泊金丙酯也有相似的性质。

## 组分和添加剂

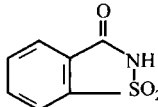
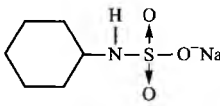
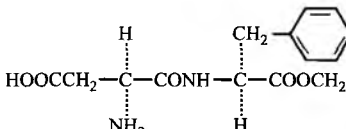
### 1. 甜味剂

甜味剂在口服液体制剂中不可缺少。甜味剂用于掩盖组分的苦味或其他令人难以接受的味道。甜味剂在大多数口服液体制剂的固含量中占了很大的比例。通常使用的甜味剂包括蔗糖、山梨醇、甘露醇、液体葡萄糖、蜂蜜、糖精和天冬氨酸苯丙氨酸甲酯等（表 5）。Hill 和同事<sup>[29]</sup>报道了普通液体处方药物使用的甜味剂的种类和浓度<sup>[29]</sup>。

表 5 甜味剂

甜味剂	甜度	化学结构	备注
蔗糖	≈1		最常用

续表

甜味剂	甜度	化学结构	备注
糖精	≈500		后味不好
环磺酸钠	≈30		禁用
天冬氨酰苯丙氨酸甲酯	≈200		溶液中不太稳定

蔗糖是使用最广泛的甜味剂，其使用历史长久。蔗糖是一种白色结晶性粉末，能溶于水和乙醇。浓度大于65wt%的蔗糖溶液可以通过降低水的活度系数而抑制微生物的生长。依据药典配置的单糖浆是浓度为85% (w/v)的蔗糖水溶液。在蔗糖溶液的制备过程中，要注意避免由热引起的蔗糖的炭化和焦化。蔗糖在pH 4.0~8.0范围内具有物理化学稳定性。蔗糖通常与山梨醇、甘油和其他多元醇结合使用，以防止其结晶。蔗糖结晶的表现之一是“锁帽”现象，当蔗糖在瓶盖的螺纹上结晶时会影响开瓶。

液体葡萄糖是一种非常黏的物质，它赋予液体制剂体积和甜味。液体葡萄糖来源于淀粉的不完全水解，主要由右旋糖、糊精、麦芽糖和水组成。液体葡萄糖与蜂蜜或糖蜜一样，可以给制剂增添一种特殊的气味和滋味，只是效果弱于蜂蜜与糖蜜。尽管液体葡萄糖不是一种纯的化学物质，其制备方法易于控制，批间差异不显著。但对蜂蜜与糖蜜的生产而言则并非如此，它们的质量取决于原料、生产日期和无法控制的自然因素。

糖精是一种合成的甜味剂，它的甜度约是蔗糖的500倍，在某种程度上甜度与溶液的浓度有关。蔗糖的相对甜度在某种程度上也取决于溶液的浓度。相对甜度在稀溶液中是最大的。对于糖尿病患者、肥胖者和其他不能吸收蔗糖的人，糖精是蔗糖的替代物。它没有食用价值，通常以钠盐的形式使用。与糖精相比，糖精钠盐味道较好，且食用后无不良味道。环己氨基磺酸钠也是一种合成的甜味剂，它的甜度是糖的30倍。但由于它的代谢物环己胺可能有毒性，所以大部分国家禁止将它作为人工甜味剂使用。

阿司帕坦，又名N-L-α-天冬氨酰-L-苯丙氨酸甲酯，甜度是蔗糖的200多倍。和糖精不同，阿司帕坦没有余味。阿司帕坦的水溶性足够大，可以应用于制剂中。它以固体形式存在时稳定，水溶液中的稳定性与温度和pH有关。阿司帕坦和糖精、蔗糖、葡萄糖和环己(烷)氨(基)磺酸盐协同作用时，水解成天冬氨酰苯丙氨酸和二酮哌嗪，

甜度下降。另外加入碳酸氢钠、葡萄糖酸盐和乳糖，可以改善其味道<sup>[30]</sup>。

## 2. 矫味剂

在口服液体制剂中，矫味剂十分重要。它能掩盖药物不良的味道<sup>[31]</sup>。

## 3. 着色剂

尽管着色剂在药品中没有发挥直接的治疗作用，但是长久以来其心理作用一直为人们认可。澄清液体制剂的外观主要取决于溶液的颜色和澄明度。很多患者根据颜色去识别处方药及合适的剂量。通过精心挑选颜色，无吸引力的药品让患者更易于接受。通常根据产品的味道选择颜色(比如柠檬味用黄色，樱桃味用红色)。

目前食品、药品和化妆品(FD&C)许可的着色剂包括染料和色淀。后者是不溶于水的色素，通过散射和反射光使溶液具有颜色。色淀不适用于水溶液。而FD&C染料是水溶性的，通过透射光具有颜色。为了得到预期的颜色，染料浓度一般应尽可能低的浓度。高浓度会产生暗的颜色。大多数液体药品染料的浓度低于0.001%。因为染料是痕量的，所以它们应该在处方混合前溶解。这样能确保在后续处理前染料完全溶解。如果将染料直接加到大体积的混合槽中，就很难确定少量不溶物的存在，且在后面的调配时容易引发问题。应该仔细考虑液体体系中影响染料色度和稳定性的因素，包括pH、微生物活性、最终包装中的曝光及染料同其他组分的相容性。因为不同pH下颜色的色度不同，所以控制pH非常重要。所有能溶解的染料均具有反应部位，一些染料可能与多价阳离子化合物(比如钙、镁、铝)不相容。FD&C 2号蓝色和FD&C 3号红色在水溶液中稳定性很差，所以不能用于水溶液制剂的着色<sup>[32]</sup>。

## K

## 4. 防腐剂

在所有未消毒药剂产品中,液体口服制剂最易被微生物污染。这种制剂上市时大多数采用了多剂量剂型,这增大了药品染菌的概率。糖和其他辅料的加入使制剂富含促进菌生长的底物。生产过程也可能引起微生物污染。除了纯化水(USP)可能引发污染外,很多天然来源的原材料可能含有大量的活孢子。许多非处方药都采用了传统的低成本制备方法,对防止微生物污染没有给予足够的重视。因此要采取足够的防腐措施防止制剂的微生物污染。

防腐剂必须满足一定的认可标准。因为液体制剂通常用于儿童和老人,所以防腐剂的主要标准是口服吸收后应具有安全性和无毒性。防腐剂应该可溶、稳定、有微生物活性以及与活性成分和其他处方成分相容。

能满足所有需求的理想的防腐剂是不存在的。必须平衡防腐剂的抗菌活性和安全性,根据不同的需求做出选择。两种或多种防腐剂经常联合使用以获得理想的效果。抗菌防腐剂主要分四类:酸性、中性、汞剂和季铵类化合物(表6)<sup>[5]</sup>。

表6 药用防腐剂<sup>[5]</sup>

防腐剂	常用浓度/%
<b>酸性</b>	
酚	0.2~0.5
氯甲酚	0.05~0.1
$\alpha$ -苯基苯酚	0.005~0.01
对羟基苯(甲)酸烷基酯	0.001~0.2
苯甲酸及其盐	0.1~0.3
硼酸及其盐	0.5~1.0
山梨酸及其盐	0.05~0.2
<b>中性</b>	
三氯叔丁醇	0.5
苯甲醇	1.0
$\beta$ -苯乙醇	0.2~1.0
<b>汞剂</b>	
硫柳汞	0.001~0.1
乙酸汞或硝酸苯汞	0.002~0.005
硝甲酚汞	0.001~0.1
<b>季铵类化合物</b>	
氯化苄烷铵(洁尔灭)	0.004~0.02
氯化十六烷基吡啶鎓(西吡氯铵)	0.01~0.02

对羟基苯甲酸酯和苯甲酸盐等酸性防腐剂广泛应用于口服制剂。它们能充分溶于水溶液中,具有抗真菌和抗细菌双重性质。甲基和丙基对羟基苯甲酸经常以10:1的比例联合使用。由于每种酯的溶解度不同,多种酯的联合使用能够获得较高的防腐剂浓度。某些研究者认为这样可以使抗菌作用最大化。

其他三种防腐剂广泛应用于眼、鼻和胃肠道外给药的制剂中,但不大用于口服液体制剂。中性防腐剂是挥发性的醇类,其挥发性导致了气味和多剂量制剂放置时防腐剂

减少等问题。汞剂和季铵类化合物是优良的防腐剂,但有不相容性<sup>[33]</sup>。汞剂很容易被还原成游离态的汞,季铵盐遇到阴离子化合物失活。

## 5. 缓冲液

在制剂的储存过程中由于产品的降解、与容器成分的相互作用或者溶入气体和蒸气,制剂的pH会发生改变。为了避免这一问题的出现,加入缓冲液来稳定pH。合适的缓冲体系应该具有足够的缓冲能力来维持制剂在储存过程中的pH稳定。要根据溶液中药物的pH性质选择合适的缓冲体系。通常使用的缓冲体系是乙酸盐、枸橼酸盐、磷酸盐和谷氨酸盐(表7)等。虽然缓冲液能维持pH稳定,但会影响体系的其他性质,比如溶解性和动力学等。缓冲液作为广义酸或广义碱的催化剂可以引起药物的降解。缓冲体系的离子强度也能影响体系的稳定性。因此,在选择缓冲体系前应对缓冲剂的影响做一些研究。

表7 液体制剂中常用的缓冲液<sup>[5]</sup>

缓冲液	pH	使用浓度/%
乙酸及其盐	3.5~5.7	1~2
柠檬酸及其盐	2.5~6	1~3
谷氨酸盐	8.2~10.2	1~2
磷酸盐	6~8.2	0.8~2

## 6. 抗氧化剂

许多药物在溶液中易发生氧化降解。这类反应是由氧自由基或分子氧介导的,通常包括加氧或去氢。氧化电势较低的药物特别容易发生降解。氧化电势低于药物的物质叫做抗氧化剂。抗氧化剂可单独或与络合剂及其他抗氧化剂联合加到溶液中,通过自身优先氧化而逐渐消耗或自身不变化但阻断氧化反应链而起作用。亚硫酸盐是水溶液中最常用的抗氧化剂。不管加入的是哪种亚硫酸盐,抗氧化剂性质都取决于处方的最终浓度和最终pH。偏亚硫酸氢盐应用于低pH溶液。一种抗氧化剂可能提供不了全面的保护。某些物质(抗坏血酸和柠檬酸)可以用作协同剂,增强抗氧化效果,尤其是那些阻断氧化反应的氧化剂。通常在有痕量重金属的制剂中使用螯合剂(如EDTA),否则重金属会催化氧化反应。

## 7. 黏度调节(增稠剂)

有时希望增大液体的黏度从而改善药物的味道或可倾倒性。加入增稠剂(如聚乙烯吡咯烷酮或羧甲基纤维素)可以达到这个目的。这些物质确保水溶液在较大的pH范围内稳定。甲基纤维素和羧甲基纤维素有很多黏度级别。后者在50%乙醇溶液中使用而不沉淀。但当有大量多价金属离子(如 $Al^{3+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Ca^{2+}$ )时,要注意避免产生不溶盐沉淀。甲基纤维素聚合物不会与金属离子形成不溶盐,但当电解质或其他溶解物质的浓度超过一定限度时会发生

盐析,这一限度由2%到40%不等,取决于电解质和甲基纤维素的种类。增稠剂能同多种有机或无机化合物形成分子复合物,应谨慎使用。高黏度体系可能通过抑制胃肠液的稀释而妨碍药物的释放和吸收。

## 制备

液体药物制剂的制备包括组分(用已经阐述的原理)和生产设备的选择。不管选用的材料和数量如何,原理都是一样的。Carstensen和Mehta报道了通过加热、搅拌和澄清,进行溶液剂型的放大生产,以及方程和计算方法<sup>[34]</sup>。

液体制剂的生产已经实现了计算机控制的自动化,一些制药公司对销量较大的产品采用了自动或半自动式的生产方式<sup>[35]</sup>。

### 1. 原料

尽管所有操作都要求使用纯化水(USP),但纯化水在液体制剂的生产中尤为关键。如果使用去离子或其他水处理设备,必须特别注意常规的微生物和化学检查。储存甘油和丙二醇的容器应该方便检测和清洁。

### 2. 设备

如果有足够尺寸和适合搅拌的容器,简单溶液可直接放大生产<sup>[35]</sup>。为快速溶解处方组分,大多数设备都具有加热和冷却的能力。生产过程中需要使用合适的输送系统和过滤设备,但必须对这些设备进行监视,以防止净化产品时将活性成分或辅料除去。所有的设备必须由合适的非活性的清洁材料制造,设计和结构应利于清洁。液体制剂的处理槽、罐、管道、搅拌机、过滤罩等通常都由不锈钢焊接而成。在工业上经常使用的三种型号的不锈钢(304、308和316)中,316由于反应活性最低而经常使用。不锈钢通常都是惰性的,但可以与一些酸性的液体制剂反应<sup>[36]</sup>。用乙酸或硝酸处理不锈钢表面的碱基可以最小化这一问题。这一过程,也就是所谓的钝化,需要定期进行。例如,如果在活性产品的批次之间使用碱性清洁剂,就需要在下一个批次生产之前进行钝化。

使用聚四氟乙烯树脂(Teflon)垫圈可以降低金属表面的相互作用。尽管Teflon是惰性的,但这些垫圈可能会发生裂缝、破裂、剥落和剥离,容易引起产品污染。

FitzSimon做了一个关于管道、阀、混合器、泵的设计和控制在生产高质量液体产品的有价值 and 实用的论述<sup>[37]</sup>。

### 3. 制备方法

能快速溶解的物质的稀溶液的制备方法是将溶质加到溶剂中并搅拌直至形成均匀溶液。制备更浓的溶液或溶质溶解较慢的溶液时可能需要加热。通常以一定的顺序加入辅料,从而增大溶解速率,快速达到溶解平衡。因此,将薄荷醇和矫味剂以含醇溶液加入。低浓度的溶质,尤其是

染料和其他有色物质应该在与主成分混合前溶解以确保溶解完全。如果将溶质直接加到大批混合槽中,很难发现容器底部的少量的不溶物。通常在均质液体的生产中,每一步都应确保完全溶解。实验室中液体以体积定量,但在大规模生产中往往采用称量法。所以处方中所有液体成分都以体积和质量两种方法来表示。

溶液必须要过滤和澄清,这一过程叫“净化”(polishing)。一种高度净化的溶液须除去大于 $3\mu\text{m}$ 的粒子。在用人用液体制剂的生产、加工或包装过程中使用的滤器不能释放纤维。如果必须使用一种产生纤维的滤器,接下来应使用一个最佳孔率的非产生纤维的滤器。助滤剂通常用于改善澄清度和增大流速,从而降低过滤时间。助滤剂的数量和种类应在产品的开发过程中确定。使用的量通常不超过 $0.5\text{g/L}$ 。助滤剂包括硅藻土、碳、膨胀珍珠岩和纤维素等。

### 4. 灌装和密封

与固体相比,液体可更方便、更均匀地从大批量容器中转移到单剂量的容器中。所有用于向容器灌装液体的机器都有一些基本特征。灌注管和容器以狭小的开口相连,重复挤压体积已知的液体通过灌注管口。灌注管的大小是由容器的开口、液体的黏度和相对密度以及预期的传输速度决定的。灌注管应该能轻松地进出容器的瓶颈,而且将液体运送到容器较深的部位,在排出空气的同时不会将液体带到容器颈部或使液体溅出容器。管道直径应该尽可能的大。灌注力过大会导致液体飞溅,如果液体表面张力较低会产生泡沫。

小剂量的液体制剂(通常儿科使用)通过注射器的活塞推动来灌装。在注射器活塞的驱动下,液体通过一个两通阀,注射器交替将液体从储器中吸取并灌装到容器中。对于相对密度大、黏稠的液体,滑动的活塞阀能发挥更好的作用。每次灌装后经常有一滴液体挂在管的末端,可以通过一个缩进装置来清除。为便于清洗,灌装机器中液体流经的部件应设计得易于拆卸。这些部件应该由不锈钢等无活性的材料制造。微量灌封器用于精确灌封。注射器也应该由不锈钢制造。注射器的推杆应能进行精确的重复操作,因此将来有可能使用有刻度的特殊装置用于进行高精度的灌封。一些操作因素也会影响精密度,如灌封速度、速度的均匀性、连接阀门和输送管的橡胶管道的膨胀、灌封管阀门的套管、阀门反应的快慢等。

大剂量的液体制剂的灌装通常不需要像小剂量制剂那样精确。因此,瓶装液体通常以重力、压力或真空装置灌装。重力灌装通常比较慢但简单。灌装线上从储器到切断设备通常都是手工操作的。容器被灌装到刻度标识。压力泵灌装操作是半自动化的,和重力灌装的主要不同之处在于它的液体处在压力状态下。通常该装备有一个溢出管与接收器连接,以防止灌装过量。

由于真空灌装适合自动化,所以经常用于大剂量制剂的灌装。当排气管垫圈在待灌封瓶口密封时,就可以在瓶内形成真空。储器内液体受真空的牵引通过灌注管流入瓶

# K

内。当液体水平面到达可调节的溢出管的高度时，密封松弛，真空也就不存在了。所有被吸至真空管的液体都回到了原容器。

灌装液体的不同方法准确度和精密度不同。因此要选用合适的方法来获得所需的精密度和准确度。每个容器都需要少量的额外灌装来弥补给药时由于药液黏附在容器壁而产生的损失。过剂量的危险和经济因素限制了给定容器的额外灌装量。

高黏度的液体需要专门设计的设备。为了达到一个合理的流速，必须使用高压或者允许接入大的传输管道的开口较大的容器。有时用加套的水箱来提高产品的温度，从而降低它的黏度。

液体灌封的各种机器经常出现的问题就是产生过多的泡沫，而高速自动设备的这个问题尤为严重。在灌封操作中可以通过一系列方法控制泡沫的产生：使用减少产品涡流的灌封装置；封闭系统以减少空气或其他产生泡沫的引入；使用机械去泡装置；减慢填充输送管的速度。这些方法引发了大量工程和生产难题。在设计产品时必须仔细考虑到在大生产和高速灌装时可能遇到的各种问题。

为保证没有微生物污染，应对与产品接触的包装材料进行微生物检查。必须注意到包装过程的每个细节。例如，小剂量的包装，塑料挤压容器的瓶塞往往是手工安装的。如果操作者在使用过程中没有使用定期灭菌和消毒的手套，那么这些过程可能是微生物污染的来源。

## 参考文献

1. Ansel, H. C. Popvich, N. G. *Pharmaceutical Dosage Forms and Delivery Systems*; Lea & Febiger: Philadelphia, 1990; 196—224.
2. United States Pharmacopoeia XXIV-National Formulary XIX; United States Pharmacopoeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 2107—2118.
3. Ecanow, B. *Liquid Medications. Dispensing of Medication*; King, R. E., Ed.; Mack Publishing Co.: Easton PA, 1984; 100—139.
4. Nairn, J. G. *Solutions, Emulsions, Suspensions, and Extractives. Remington's Pharmaceutical Sciences*; Genaro, A., Ed.; Mack Publishing Co.: Easton, PA, 1990; 1492—1517.
5. Boylan, J. C. *Liquids. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*; Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1996; 457—458.
6. Valvani, S. C. Yalkowsky, S. H. *Solubility and Partitioning in Drug Design. Physical Chemical Properties of Drugs*; Yalkowsky, S. H., Sinkula, A. A., Valvani, S. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1980; 201—229.
7. Sinkula, A. A. Morozowich, W. Rowe, E. L. *J. Pharm. Sci.* 1973, 62, 1106—1111.
8. DeLuca, P. P. Boylan, J. C. *Formulation of Small Volume Parenterals. Pharmaceutical Dosage Forms; Parenteral Medications*; Avis, K. E., Lachman, L., Lieberman, H. A., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1986; 1, 139—201.
9. Rubino, J. T. *Cosolvents and Cosolvency. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990; 3, 375—398.
10. Martin, A.; Swarbrick, J. Cammarata, A. *Physical Pharmacy*; Lea & Febiger: Philadelphia, 1983; 577—579.
11. Melby, J. C. Cyr, M. *St. Metabolism* 1961, 10, 75—82.
12. Repta, A. J. *Alternation of Apparent Solubility Through Complexation. Techniques of Solubilization of Drugs*; Yalkowsky, S. H., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1981; 135—158.
13. Florence, A. T. *Drug Solubilization in Surfactant Systems. Techniques of Solubilization of Drugs*; Yalkowsky, S. H., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1981 15—90.
14. Sanders, L. M. *Abstracts of American Pharmaceutical Associations 133rd Annual Meeting 1986*, 16, 14—16.
15. Pernarowski, M. *Solutions, Emulsions, Suspensions and Extractives. Remington's Pharmaceutical Sciences*; Osol, A., Hoover, J. E., Eds.; Mack Publishing Co.: Easton PA, 1970; 1488—1489.
16. Yalkowsky, S. H. Roseman, T. J. *Solubilization of Drugs by Cosolvents. Techniques of Solubilization of Drugs*; Yalkowsky, S. H., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1981; 91—134.
17. Moore, W. E. J. *Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 1958, 47, 855—857.
18. Agharkar, S. Lindenbaum, S. Higuchi, T. *Am. Pharm. Sci.* 1976, 65, 747—749.
19. Albert, A. *Nature* 1958, 182, 421—423.
20. McBain, J. W. *Advances in Colloid Science; Inter-science*; New York, 1942; 1.
21. Streng, W. H. *Drug Develop. Indus. Pharm.* 1985, 11, 1869—1888.
22. Cartensen, J. T. *Drug Stability: Principles and Practices*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990; 15—108.
23. Parasrampur, J. Gupta, V. D. *J. Pharm. Sci.* 1989, 78, 855—857.
24. Parasrampur, J. *University of Houston; Houston*, 1989, 94.
25. Shami, E. G. Bernardo, P. D. Rattie, E. S. Ravin, L. J. *J. Pharm. Sci.* 1972, 61, 1318—1321.
26. Kuramoto, R. Lachman, L. Cooper, J. J. *Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 1958, 47, 175—180.

27. Scott, N. W. Goudie, A. J. Huettman J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 1960, 49, 467—472.
28. Patel, N. K. Kostenbauder, H. D. J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 1958, 47, 289—293.
29. Hill, E. M. Flaitz, C. M. Frost, G. R. Am. J. Hosp. Pharm. 1998, 45, 135—142.
30. Beck, C. I. Application Potential for Aspartame in Low Calorie and Dietetic Food. Low Calorie and Dietary Food; Dwivedi, B. K., Ed.; CRC Press, Inc.: Boca Raton, FL, 1978; 68.
31. Adjei, A. Doyle, R. Reiland, T. Flavors and Flavor Modifiers. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1992; 6, 101—139.
32. Woznicki, E. J. Schoneker, D. R. Coloring Agents for Use in Pharmaceuticals. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1990; 3, 65—100.
33. Lachman, L. Bull. Parent. Drug Assoc. 1968, 22, 127—144.
34. Carstensen, J. T. Mehta, A. Pharm. Technol. 1982, 6, 64—77.
35. Yelviggi, M. Pharm. Technol. 1984, 8, 47—56.
36. Narurhar, A. N. Sheen, P. C. Corrosion in Pharmaceutical Processing. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1990; 3, 353—360.
37. FitzSimon, R. Drug Dev. Commun. 1976, 2, 1—31.

(张春娜 张小红 译)

K

## L

## 蜡

Roland A. Bodmeier

Freie Universität Berlin, Berlin, Germany

## 引言

蜡通常指的是一种在室温下为塑性固体、在高于其熔点的温度下呈低黏度液体的物质。严格地讲,蜡在化学上的定义是单羟基长链脂肪醇和长链脂肪酸所形成的酯。通常所说的蜡指化学上不同的一大类物质,包括甘油酯、脂肪醇、脂肪酸及其酯等。在药学文献中,蜡、脂肪和脂质经常互用,没有形成统一的用词。它们都有亲脂性,难溶于水,易溶于非极性溶剂。除天然产物之外,许多半合成产物,如脂肪醇、脂肪酸、及表面活性剂也来源于脂质。

制药工业使用蜡已经有很多年了。它们在半固体剂型(如软膏、软膏和洗剂)和栓剂方面的应用已广为人知,相关文献也很多。由于具有亲脂性,蜡可用于缓释的单元和多单元固体剂型。本章综述了蜡在缓释载体和缓释包衣材料方面的不同应用。

## 剂型中应用的各种蜡

按蜡的来源可将其分为动物蜡、昆虫蜡、植物蜡、矿物蜡和合成蜡<sup>[1~7]</sup>。

最常见的动物蜡是从羊毛中提取的羊毛脂,它主要含 $C_{18} \sim C_{26}$ 的脂肪醇和脂肪酸的酯、甾体醇(胆固醇)、萜醇,常用于外用制剂。鲸油也是一种常见的动物蜡,是由抹香鲸的脑油冷却沉淀而得到的,主要含十六烷基棕榈酸酯。由于大家关注常见动物来源的产品,所以鲸油已被其他天然或合成产品所取代。

最常用的昆虫蜡是蜂蜡,它来源于蜂巢,收载于GRAS,分为白蜂蜡和黄蜂蜡两类,它们都是由直链单羟基醇( $C_{24} \sim C_{36}$ )和直链脂肪酸形成的酯的混合物,主要是蜂蜡棕榈酸酯。蜂蜡中也含有游离的酸和糖。白蜂蜡是用氧化剂或日光漂白黄蜂蜡得到的。NF18的质量标准中规定其熔程在 $62 \sim 65^{\circ}\text{C}$ ,酸值为 $17 \sim 24$ ,酯值为 $72 \sim 79$ <sup>[8]</sup>。它几乎不溶于水,微溶于乙醇,易溶于氯仿和各种油类。蜂蜡在外用制剂中用作硬化剂,在w/o型乳剂中用作稳定剂,在糖包衣中用作抛光剂。

巴西棕榈蜡是植物来源的蜡,来源于巴西土生的巴西棕榈树,是从干树叶表面得到的,广泛用于食品、化妆品和药品,是一类富含相对分子质量大的酸和羟基酸的酯的混合物。巴西棕榈蜡硬且脆,熔点高。NF18的质量标准中规定其熔程 $81 \sim 86^{\circ}\text{C}$ ,酸值 $2 \sim 7$ ,皂化值 $78 \sim 95$ 。巴西棕榈蜡不溶于水,微溶于沸乙醇,溶于热氯仿。除了后面要介绍的用于缓释制剂外,由于其光泽好,还用于糖包衣中

作为抛光剂,以及用于外用制剂。其他植物来源的蜡使用较少,如大戟蜡和蓖麻蜡。

氢化植物油是由精制的植物油氢化而得,它是甘油三酯的混合物,在USP23中定义了两种类型。II型指部分氢化的植物油,熔程比I型低而碘值比I型高。I型的熔程在 $57 \sim 70^{\circ}\text{C}$ ,碘值为 $0 \sim 5$ ,而II型的熔程在 $20 \sim 50^{\circ}\text{C}$ ,碘值在 $55 \sim 80$ 。它们可用作润滑剂、缓释骨架材料、半固体剂型的黏度调节剂,可增强栓剂的固化,并尽可能减少分散药物的沉降。

两种常用的矿物来源的蜡是微晶石油蜡和晶体石蜡。它们都是从石油中获得的,其质量和数量取决于原油质量和精炼过程。微晶蜡(石油蜡)由链长 $C_{41} \sim C_{57}$ 的直链和支链烷烃构成。NF18的质量标准中规定其熔程在 $54 \sim 102^{\circ}\text{C}$ ,以塑性和硬度分级。它不溶于水,微溶于乙醇,溶于氯仿。不但可用作缓释载体,还可用作外用制剂的硬化剂。由于其黏度高、熔点高,可增加乳膏和油膏的黏附性。石蜡(硬蜡)是直链固态烷烃的混合物,作为基质或硬化剂用于油膏和软膏,在 $47 \sim 65^{\circ}\text{C}$ 凝结,可根据所需熔程选择不同的级别。它不溶于丙酮、乙醇和水,溶于氯仿和大多数热油。相对分子质量低的聚乙烯( $M_w < 10\,000$ )有蜡样性质,可用于外用制剂,如作为凝胶剂用于塑性基质。

## 定性

由于植物蜡和昆虫蜡是野生的,组成复杂,使用前确定蜡的物理和化学性质就显得十分重要<sup>[1~6]</sup>。天然材料的组成常随产地、气候、收获季节和年龄的不同而变化。为了获得高质量的药品,对原材料进行质量控制极其重要。

化学定性方法包括测定其酸值、皂化值、碘值、羟值和过氧化物值。蜡的熔点采用不同的测试方法往往有不同的结果。由于蜡在化学组成上不同,常常只能观察到一个熔程,而不是确切的熔点。甘油酯的熔点随羟基数的增多、不饱和度的降低、脂肪酸相对分子质量的增大而升高。许多蜡的熔点可以用毛细管测得。向一端封闭的毛细管中填充被测物质,将其浸入烧瓶内的水中,在适当条件下加热,观察管内液体开始上升时的温度即为滑点(slip point)。实验测得的下降点虽然也可以用,但对于黏度较高的蜡结果并不可信。蜡的凝固温度是当熔化的蜡冷到不再流动时的温度。热法如差示扫描量热法(DSC),广泛用于定性和定量测定蜡的加热和冷凝曲线。在此过程中发生的潜在多晶型转化和重结晶过程可通过不同的升温曲线加以模拟。

栓剂基质在模具中冷凝时出现收缩是一个普遍的现象。蜡的膨胀和收缩现象在蜡熔化加工中也很重要,例如,喷



雾凝结法制备微粒、热融包衣、硬胶囊的热融填充等。蜡在由固体转变为液体的过程中发生的热膨胀可以用膨胀仪测得。蜡的硬度可以用穿刺实验来测定,可选择不同温度下,测定固定质量下针的刺入深度。熔融状态的蜡的黏度也是一个重要参数,特别对于存在蜡熔化过程的热融包衣和喷雾凝结工艺。在 ASTM 各论中(D88),测定了一定质量的熔化蜡流过一个特定大小的孔的时间。

蜡的颜色将影响最终产品的颜色。经常用洛维邦德色辉计来测定色度,在标准光源下,将原料的颜色和一系列标准色的玻璃进行比较。同一固体蜡由于内含空气的量、冷却速度、表面的不同,颜色也有差别。因此,最好在熔融状态下测量蜡的颜色。两个 ASTM 标准色用于测量由深棕色到浅白色和由浅白色到纯白色。折光指数和相对密度也是经常测定的参数。

蜡的结构和物理性质,特别是脂质的固态和液态行为,以及光谱特征已经有很详细的描述<sup>[4]</sup>。

## 药剂学应用

### 1. 蜡在骨架型给药系统中的应用

将药物混入惰性骨架中是延缓药物释放的一种常用手段。缓释蜡骨架给药系统包括用制粒或挤出-滚圆工艺制备的蜡颗粒或小丸、片剂和蜡填充的硬胶囊。

### 2. 蜡颗粒和小丸

含药颗粒一般是通过熔融-凝结工艺、在氯仿中凝结制粒和水分散三种方法制得的<sup>[9~11]</sup>。在凝结法中,药物混悬在熔融的蜡中,边搅拌边缓慢冷却,直至形成固体,然后再粉碎成颗粒。氯仿中凝结制粒的过程与此相似,将药物混悬在蜡的氯仿溶液中,搅拌混合物直到溶剂蒸发,然后粉碎成颗粒。在制粒工艺中,粉末状的蜡和药物用氯仿制粒。还有最后一个方法,向熔融的药物-蜡混合物中加入热水,直至发生转相。将乳剂冷却,通过过滤颗粒从水相中分离。熔融-凝结法对于延迟药物释放效果最为明显,可能由于此法制得的颗粒结构更加紧密。

缓释吠喃妥因微粒以硬脂酸和单硬脂酸甘油酯作为骨架材料,通过熔融、溶剂蒸发或熔融制粒技术制备<sup>[12]</sup>。为了能增加药物的释放,考察了不同致孔剂的作用,包括 Aerosil、Avicel、磷酸氢钙二水合物和氯化钠。在熔融法中,待脂质融化后,将药物加到熔融物中,冷却,凝结物过标准筛制粒。在溶液蒸发法中,将药物和蜡载体溶解于二甲基甲酰胺中,在 70℃ 时溶剂蒸发,形成的物料用前述方法制粒。在熔融制粒方法中,药物与载体高速混合,摩擦使温度升高,当接近脂肪的熔点时,由于凝结作用而成颗粒,冷却的颗粒再粉碎过筛。只有熔融法制得的微粒才有缓释作用。令人惊讶的是,溶剂蒸发法和熔融制粒法制得的颗粒有速释作用。

含药小丸是由 10% 药物(扑尔敏马来酸盐或对乙酰氨基

酚)、60% Avicel PH-101 和 30% 蜡的粉末混合物用挤出-滚圆工艺制备而得<sup>[13]</sup>。80℃ 将小丸热处理 30min, 导致小丸中的蜡熔化并发生重新凝结,以此减慢药物的缓释。这也许是因为小丸中蜡的增稠和重新分布引起的。药物的释放取决于处理温度和蜡的用量,随着两者的增加,药物释放减慢。小丸还可以压制成片剂,片剂的缓释效果要好于相应的小丸。没有经过热处理的片剂多会崩解成小丸,而热处理过的片剂则不崩解。

双氯芬酸钠-棕榈蜡骨架颗粒含有多种控释辅料,如羟丙基纤维素、Eudragit L-100 或氯化钠,采用双螺杆挤出机制备,并评价了其体内、体外的相关性<sup>[14,15]</sup>。药物的释放主要取决于颗粒的组成,湿颗粒的机械强度很高,且体外溶解参数和体内参数相关性非常好。

### 3. 蜡骨架片

蜡骨架片剂可以由上述的颗粒或小丸压制而成,或由粉末状的高熔点蜡混合物直接压片而制得。与聚合物骨架材料相比,片剂中所含的蜡是有限的,这是因为高剂量的蜡会熔融和黏冲。在较低的温度下压片可能会解决这个问题。

含有盐酸麻黄碱和氢化蓖麻油的骨架片可以采用物理混合物压制或熔融凝结物压制的方法制备<sup>[16~18]</sup>。第二种方法是将药物加入到 100℃ 的熔融氢化蓖麻油中,再将此熔融物倾倒在玻璃板上冷却,粉碎并压制成骨架片。将 0.1% 的溴化烷基三甲基铵作为表面活性剂加入到溶出的介质中,可增强蜡质表面的湿润度。药物的释放随基质中载药量的增多而增大,这可用孔隙数量与时间的平方根关系解释(图 1)。由熔融法制得的骨架片的释药速度较慢,主要因为与物理混合法相比,熔融骨架扭曲度更高,孔隙率更低。在两种方法中增加压力都可以降低释药速率,但物理混合法的效果更加明显。工艺也会影响释药机制和速度,对于熔融工艺,骨架扩散机理起主导作用;而物理混合物压片,界面层扩散起主要作用。在第一种情况下搅拌速度不影响药物释放,而在第二种情况下则会影响。

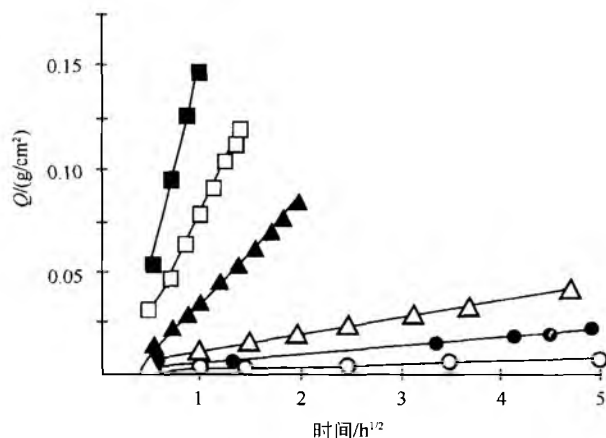


图1 压力为 7MPa 的骨架片中盐酸麻黄碱浓度对释放的影响<sup>[17]</sup>。(○) 5%; (●) 10%; (△) 20%; (▲) 30%; (□) 40%; (■) 50%

L

有人开发了以 Gelucires 为基质的硝苯地平缓释片<sup>[19]</sup>。在药物-PVP 共沉淀物中加入 Gelucires 氯仿溶液, 然后再除去溶剂, 加入熔融 Gelucires, 再冷却此糊状物。将混合物过 0.5mm 筛制粒, 压片。两种工艺的溶出曲线并没有区别, 然而由于熔融法没有引入有机溶剂, 所以优先使用。加速稳定性试验表明, 温度和湿度对片剂的化学稳定性无影响, 但溶出曲线改变了。高温和高湿环境下的改变是由于处方中硝苯地平形成了微晶, 蜡载体的结构发生了改变。

乙基纤维素和石蜡或氢化蓖麻油的混合物可作为载体材料应用于缓释氨茶碱片<sup>[20]</sup>。用热乙醇进行湿法制粒, 片剂还要用 Eudragit RL/RS 或 HPMC/乙基纤维素包衣。由于在 70℃ 退火可使药物在片核中熔融, 所以显著减缓了药物的释放。氢化蓖麻油优于石蜡。增加蜡的含量和减少乙基纤维素的含量或增加载药量都可使药物释放速度加快。

为了克服亲水骨架片剂的表层亲水聚合物凝胶会发生不受控制的溶蚀这个缺点, Huang 等研究了一些蜡-载体材料的组合应用<sup>[21]</sup>, 考察了巴西棕榈蜡与肠溶性丙烯酸聚合物 (Eudragit L100) 组合, 作为盐酸苯海拉明的载体材料。将药物和 Eudragit L100 混合, 加入熔融蜡, 然后凝结、制粒、压片。此聚合物提供了蜡不溶结构。阴离子聚合物用量的增加显著减慢了药物的释放速度。阳离子药物苯海拉明和蜡骨架中的阴离子 Eudragit L100 相互作用, 当有水渗入时形成复合物。只有药物和肠溶性聚合物时, 药物从片剂中的释放显著受溶出介质 pH 的影响, 当加入巴西棕榈蜡后, 药物的释放却几乎与 pH 无关。除了蜡的延迟作用外, 在低 pH 时, 肠溶性聚合物也可延迟释放, 在高 pH 时, 药物与肠溶性聚合物形成复合物而溶解度减小。这样就消除了 pH 对药物释放的影响。

基于淀粉和微晶蜡混合物的小型骨架片, 是用热螺杆挤出机熔融制粒, 然后研磨、压片而得<sup>[22]</sup>。这种技术优于球形造粒技术。

将表面活性剂引入蜡骨架中可以加速药物释放<sup>[23]</sup>。将药物与表面活性剂加入熔融的巴西棕榈蜡和硬脂醇的混合物中。水不溶性表面活性剂, 如甘油单硬脂酸酯, 对溶出速率无影响; 水微溶性表面活性剂, 如硬脂酸钠或二辛基琥珀酸钠, 可适度加快药物释放; 而聚氧乙烯 23 月桂醇醚则能显著加快药物释放。药物释放遵循滤取机理, 药物在骨架中不发生扩散。据推测, 表面活性剂可形成更多的通道, 增加了骨架的多孔性, 使药物更易滤取进入溶出介质。

虽然药物从蜡骨架中的释放与时间的平方根相关, 但采用多层氢化蓖麻油骨架的结构, 因为每层含不同浓度的活性成分, 所以盐酸麻黄碱与盐酸普鲁卡因的释放接近零级动力学<sup>[24]</sup>。

有人研制出一种含氯化十六烷基吡啶的生物黏附性止咳锭, 为多层片结构<sup>[25]</sup>。此片一层含有生物黏附性聚合物聚羧乙烯, 另一层含有药物和蜡 (鲸油或 Precirol ATO-5)。

#### 4. 蜡植入剂

除聚丙烯酯类聚合物外, 蜡也可以作为生物相容性和

生物可降解性的载体材料植入。可以采用标准的压片设备来制备压制蜡。

考察了不同的脂质, 包括甘油三酯 (如三月桂酸甘油酯、三肉豆蔻酸甘油酯、三棕榈酸甘油酯和三硬脂酸甘油酯) 和脂肪酸, 作为缓释胰岛素植入剂的载体材料<sup>[26]</sup>。将药物和蜡的粉末状混合物压成盘状, 然后植入 Wistar 鼠的皮下。实验表明, 单甘油酯由于溶蚀过快, 甘油三酸酯只是简单地延缓胰岛素的释放, 以棕榈酸和硬脂酸作为载体材料所得缓释效果最好。

有人研究了模型蛋白——牛血清蛋白 (BSA) 从压制的硬脂酸小丸中的释放与载药量、药物和载体颗粒的粒径、压制力等的关系<sup>[27]</sup>。在载药量低 (5%) 时, 药物释放随 BSA 粒径增大而增加, 而与硬脂酸的粒径无关。而在载药量的 (20%) 时, 药物释放随硬脂酸粒径的增大而增加。只有当硬脂酸粒径很小时, BSA 的释放量才随 BSA 的粒径增加而增大。在实验选择的压制力范围内, 压制力对释药无影响。在一系列文章中, 同一个研究小组研究了将胆固醇-卵磷脂作为抗原植入剂的载体<sup>[28~31]</sup>。

Labrafil 1944 CS (一种衍生化的植物油) -Precirol ATO 5 (脂肪酸甘油酯) 凝胶显示出良好的生物相容性和生物可降解性, 并实现了在体内长时间的类固醇类的可控释放<sup>[32]</sup>。

#### 5. 填充蜡的硬胶囊

蜡很难被高度压缩, 压缩会引起蜡的熔化, 导致黏冲和制剂破损, 因此有必要用惰性填充剂来稀释药物-蜡颗粒。高剂量的药物需要更多的蜡, 以达到缓释效果, 从而更难以制成片剂。除了压制成片, 可向硬胶囊中填充药物溶液或液态药物在熔融蜡中的分散物。一旦冷却, 药物-蜡可凝结成塞状。硬胶囊液态填充的优点在于, 与固态填充硬胶囊相比, 质量更均匀, 并消除了粉尘危害和空气粒子的交叉污染。药物-载体系统在熔融和凝结时, 应与胶囊壳无相互作用, 且药物和载体的物理状态在存储中应不发生变化。蜡的熔点应足够低, 以防药物降解和胶囊壳损坏。

为了能将熔融或触变性制剂填入硬胶囊, 对 Zanasi 硬胶囊粉末填充机 (型号 MZ64) 进行了改良<sup>[33,34]</sup>, 大大改善了填充的均匀性, 还解决了许多与填充常规胶囊有关的常见问题。

混入硬胶囊中的 Gelucire 基质的液体或可溶性药物 (苯佐那酯、烟酸、水合氯醛、甲乙双酮) 的释放, 与载体在模拟胃液中的表现有关<sup>[35]</sup>。Gelucire 是半合成甘油酯类, 具有不同的两亲性, 来源于天然氢化食品级的脂肪和油类, 按照熔点 (33~64℃) 和 HLB 值分级。Gelucire 的 HLB 值越高, 熔点越低, 药物的释放速度越快。Gelucire 要么完全溶解, 要么保持完整, 但不会软化。

众所周知, 蜡基质的剂型物理性质不稳定。栓剂基质经常显出熔点的升高, 同时会硬化。这种硬化可导致释放率减小, 从而影响体内过程。用 DSC 和溶出考察熔融填充的硬胶囊, 硬化性质用相对穿透表示<sup>[36]</sup>。用 DSC 和显微方

法都可以明显地观察到酮洛芬溶于蜡、Gelucire 50/13, 在室温下形成固态溶液而不出现药物结晶。蜡在储存过程中, 熔点增加, 并伴随着硬化, 然而释药速率也增加, 这要由骨架溶蚀的增加造成的。这种体外变化并不影响蜡骨架的体内过程。

除了热熔填充胶囊工艺外, 缓释蜡骨架硬胶囊可以用一种新的方法制备——在流化床中的热气流中流化<sup>[37]</sup>。将药物-蜡混合粉末填入硬胶囊, 然后将硬胶囊悬浮在热气流中, 并在流化床的腔体内循环。在高于蜡熔点的流化温度下, 胶囊旋转, 离心力的作用使药物-蜡混合物流向胶囊底端。熔融混合物在加热结束后固化, 在硬胶囊两端可得到含有溶解或分散的药物的固体。将两亲性(HLB值)不同的蜡混合起来, 可实现对药物释放的良好控制。选择 Gelucire 50/13 (熔点为 50℃) 和 Precirol ATO-5 (熔点为 53℃, HLB=2) 作为药物载体, 药物的释放随亲水性大的蜡的用量的增加而加快。在含有药物的熔融蜡凝结后, 药物可以分散、分散/溶解或溶解于蜡基质中。在蜡骨架成形后, 用 DSC 来观测药物的物理状态。蜡骨架中的药物量与熔化热呈线性相关(图 2)。药物在蜡骨架中的溶解度或熔点是直线的截距。盐酸普萘洛尔分散但不溶于 Precirol ATO-5 基质中, 而茶碱则部分溶解于蜡中。

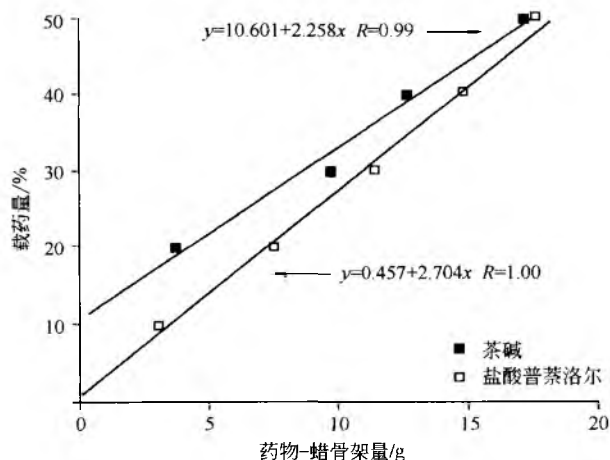


图 2 盐酸普萘洛尔和茶碱载药量与熔融热的关系<sup>[37]</sup>

## 6. 蜡在包衣中的应用

除了主要用于骨架处方中外, 蜡还可以用作颗粒和小丸的包衣。固体剂型常通过包衣来达到缓释效果, 提高稳定性, 遮盖药物的不良味道。与用聚合物溶液或分散液作包衣相比, 蜡包衣具有很多优点。蜡包衣可以不引入有机溶剂, 效率高, 缩短工艺。有许多食品级天然的或半合成的蜡材料可供选择。

蜡可以热熔、热乳剂、水混悬剂(胶状蜡颗粒)、有机溶液等状态用作固体制剂。包衣工艺包括浸润包衣、锅包衣和流化床包衣等。用喷雾凝结法制备药物颗粒包衣, 将在“蜡在微囊中的应用”一节讨论。

## 7. 热熔包衣

关于包衣工艺, 有人评价了流化床技术及其改进技术用于热熔融包衣<sup>[38~40]</sup>。流化床技术包括顶部、底部和切线喷雾技术与旋转流化床技术。将要包衣的颗粒悬浮于热高速气流中, 熔融的蜡以雾状小液滴形式进入。

顶部喷雾模式, 即对正在向上运动的颗粒从顶部向下喷熔融的蜡, 是热熔融包衣的优选系统(图 3)。与其他两种喷雾模式相比, 产物温度可保持在最接近蜡的凝结温度。为了保证蜡能被喷进流化床, 蜡必须保持在熔融状态。有人开发了一种特殊的喷嘴棒, 喷嘴棒是含有一个通熔融液体的中心管的三轴结构。中心管的周围有一个小的喷雾气空间, 用来运送高压、低体积的空气, 以控制喷嘴的阀。这个小的喷雾气空间在泵运行时开启。有一个更大的空间包围着这些管子, 通过这个空间来供应热的雾化空气。喷嘴应尽可能接近底部床, 以减少熔融液滴接触底物表面所经过的距离。

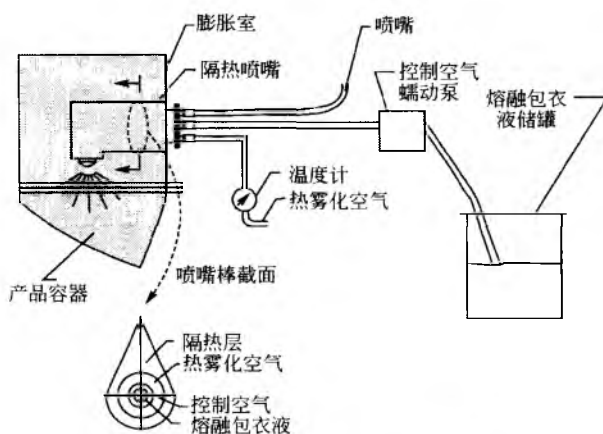


图 3 顶喷热熔包衣的隔热喷嘴和棒<sup>[38]</sup>

流化特性不好的底物, 如较大的颗粒和(或)密度较高的粒子, 很难用顶部喷雾模式包衣, 而更常用底部喷雾模式。采用切线喷雾工艺时, 必须保证产物温度低于顶部喷雾技术所得产物的温度, 以防止包衣的颗粒黏附于生产容器上。与其他两种方法相比, 采用切线喷雾法对底物压力更大。

重要的工艺和处方变量: 产物床的温度, 雾化条件, 底物种类, 包衣材料性质和预期的释放速度(速释型或缓释型)。为了获得良好的包衣, 喷雾空气必须加热到与熔融蜡同样的温度, 以防过早凝结。蜡滴在撞到底物表面之前, 必须保持液体状态。在熔融材料对固体剂型的包衣中, 生产床的温度对包衣的成功与否起决定性作用。如果生产温度低, 熔融蜡滴会过早凝结, 而不能很好地在底物表面铺展, 更有甚者, 包衣材料不能黏附在底物表面, 从而导致表面结构粗糙多孔, 释药速度加快。如果生产温度过高, 会造成凝结不当和包衣变硬, 导致过多的颗粒聚集和堵塞

滤袋出口。推荐将入口气体温度设置为低于包衣材料熔点 10~15℃, 而雾化气和熔融蜡的温度应高于蜡熔点 40~60℃。

液滴的大小和均匀性对包衣的成功与否也具有决定性的作用。熔融蜡滴的大小取决于熔融物的黏度和喷雾空气的压力。颗粒越小, 要求蜡滴也越小, 因此要求更高的喷雾空气压力来减小凝聚和成球的概率。为了得到小蜡滴, 可以通过增加熔化温度来降低熔融材料的黏性。在相同的雾化条件下, 低进料速率同样会得到更小的蜡滴。熔化物的喷雾速率通常比包衣溶液或分散液低得多。然而低喷雾速率可以由应用纯包衣材料抵消, 所以其效率还是比聚合物溶液或分散液包衣高, 因为不用蒸去溶剂。

在熔化物喷完后, 减小流化, 冷却产物床。冷却循环不要过长, 以避免包衣产物之间发生摩擦。然而快速冷却会造成包衣材料的收缩, 从而导致包衣层破裂, 并可能导致蜡形成不稳定的多晶型。

蜡的选择主要依据熔点、熔程和熔化物的黏度。蜡的熔点应当低于 85℃, 因为熔化物的温度通常保持在高于其熔点 40~60℃ 的温度。熔程很广的材料在喷雾过程中会变得很黏, 因为产物的温度范围很宽, 并且出现低熔点的部分。包衣材料包括不同的氢化植物油、蜂蜡、石蜡、巴西棕榈蜡和聚乙二醇。

#### 热乳剂、水悬浊液或有机蜡溶液包衣

与热熔工艺相比, 热乳剂包衣有很多优点<sup>[41,42]</sup>。热乳剂可蜡保持在熔融状态, 并且由于热水的存在, 可防止其过早凝结。这使蜡更容易向喷嘴转运, 因此实验设置也更简单。另外, 蜡乳剂的温度要低于相应的蜡熔融物。已制造出含有高达 50% 固体的不同蜡 (如山嵛酸甘油酯-Compritol-88 和硬脂酸棕榈酸甘油酯-Precirol-ATO5) 的 o/w 型乳剂。将乳剂通过微型流化床以进一步减小油相中粒子的大小, 然后将热乳剂直接喷向流化床或在包衣前冷却形成“蜡假乳胶”。与热熔包衣相比, 此法的缺点有: 要蒸发大量的水, 因此要花费较长的时间; 要在蜡包衣中引入表面活性剂。对于稳定乳剂必不可少的表面活性剂可能会影响药物释放。使用液态表面活性剂, 如各种 Tween 和 Span 组合, 会形成黏性小珠, 因此固体表面活性剂如月桂醇硫酸钠等更适合。愈创木酚甘油醚从包衣小丸中的释放, 随着蜡的疏水性和包衣量的增高而降低。包衣条件 (如温度、喷雾速率、老化) 和乳剂/悬浊液的粒子大小, 从根本上影响了蜡包衣的微观结构, 从而影响药物释放。与聚合物包衣相比, 要得到同样的缓释曲线, 蜡包衣必须采用更厚的包衣层。

Bagaria 用巴西棕榈蜡、石蜡、蜂蜡和氢化蓖麻油、大豆油或棉籽油等蜡制备乳剂, 然后将其包在载药的糖丸表面<sup>[43]</sup>。“乳剂”这个词实际上很容易引起误解, 因为终产物是部分微米级的蜡颗粒 (蜡假乳胶) 的水混悬液。与聚合物的水性分散体相似, 通过喷雾干燥可将蜡混悬液变为粉末。药物从用再分散的喷雾干燥粉末包衣的小丸中释放,

与从用原来的分散体包衣的小丸中的释放相比, 几乎所有制剂的药物均可在 2~4h 实现 100% 释放。

与有机聚合物溶液一样, 可以将蜡溶解于有机溶剂, 然后喷在固体剂型上。在大多数研究中, 将蜡 (如蜂蜡、氢化蓖麻油、微晶蜡或单、二硬脂酸甘油酯) 溶解于含氯有机溶剂 (如氯仿、四氯化碳、三氯乙烷) 中, 在较高的温度下, 在包衣锅中使用<sup>[44~46]</sup>。将乙基纤维素和不同的蜡 (如蓖麻油、巴西棕榈蜡、石蜡等) 在氯仿中混合, 可作为缓释包衣材料<sup>[47]</sup>。对于相对分子质量大和 (或) 溶解度低的药物, 适于应用乙基纤维素/蜡比例较小的混合物, 而对于相对分子质量低和 (或) 溶解度高的药物, 应用乙基纤维素/蜡比例高的混合物。在包衣量为 10% 时, 它们都可以达到预期的缓释效果。由于有机溶剂的使用不受欢迎, 有机溶液包衣已经过时了。

## 8. 蜡在微囊中的应用

蜡微颗粒主要通过水和非水的熔融分散技术或喷雾凝结/喷雾干燥法来制备。下面对这些技术进行简单的回顾。

### 8.1 以熔融-分散技术制备的微颗粒

在熔融-分散技术中, 含药的熔融蜡相分散于热的含乳化剂的外相中。根据药物的溶解性, 外相可以是水 (用于水不溶性药物) 或非水溶剂 (用于水溶性药物)。乳剂冷却时, 液滴凝结, 形成蜡微粒的混悬剂。然后通过过滤或离心的方法分离出微粒, 有时还要洗涤以除去游离的药物结晶和表面活性剂。最后干燥, 过筛。

布洛芬-蜡 (巴西棕榈蜡、石蜡、蜂蜡、Gelucire 64/02、Precirol ATO-5 等) 微粒通过载药量、形态学特征和释放特征加以定性<sup>[48]</sup>。亲水性更好的蜡 (Gelucire 64/02 和 Precirol ATO-5), 制备微粒时不需要加入表面活性剂; 而其他蜡在冷却时则快速凝集, 形成大块。对于这些蜡, 在外水相中增加月桂醇硫酸钠的用量, 增溶药物来而低载药量。当用聚乙烯醇作稳定剂时, 则不会发生上述情况。乳化过程中, 药物会被分配至外水相, 直至达到其在乳化温度下的溶解度。在乳剂冷却过程中, 由于溶解性降低, 药物有可能在水相中沉淀。由于布洛芬在外水相的溶解度低, 所以蜡的种类、冷却速度、搅拌时间和水相温度对于载药量都无显著影响。实际的载药量可达到 60% 左右。药物的释放由蜡的疏水性控制 (Gelucire 64/02 > Precirol ATO-5 > 蜂蜡 > 巴西棕榈蜡 > 石蜡) (图 4)。由于药物的溶解度低, 可将这些蜡微粒制成缓释口服混悬液剂型。

采用改良的 USA 迷你篮法, 考察处方因素 (如蜡的种类、调节剂类型、载药量粒径) 对布洛芬从蜡微粒中的释放的影响<sup>[49]</sup>。药物释放速度为蜂蜡 > 巴西棕榈蜡 > 精制石蜡 > 微晶蜡。在最初的突释后, 药物从后两种微粒中释放的速度减慢。限于药物的溶解度, 无法模拟胃液的漏槽效应, 所以在模拟肠液中进行溶出试验。为了增加药物从蜡微球中的释放, 在制备微粒前加入单硬脂酸甘油酯或硬脂酸。这些释放调节剂的加入也减小了蜡凝聚成团的可

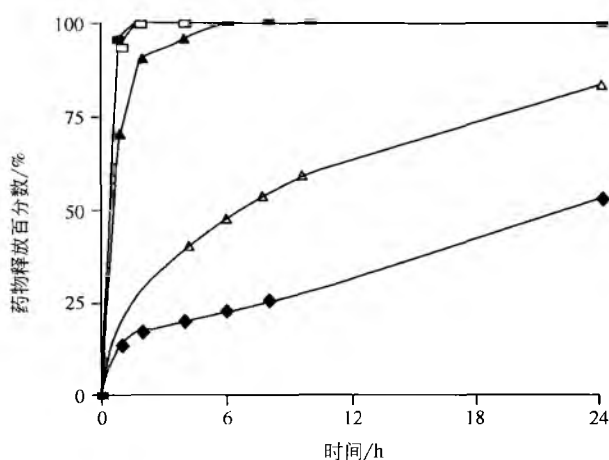


图4 布洛芬从不同蜡质微粒中的释放曲线<sup>[48]</sup> (实际载药微粒)。■ Precirol ATO5 (35.3%); □ Gelucire 64/02 (35.4%); ▲ 蜂蜡 (37.7%); △ 巴西棕榈蜡 (37.3%); ◆ 石蜡 (35.0%)

能<sup>[50]</sup>。DSC 观察表明,布洛芬溶解于熔融蜡,并在凝结和形成微球时不结晶。

在改进的熔融分散法中,将磺胺甲噁唑颗粒分散于热水中,并加入蜂蜡粉末。熔融的蜡滴聚集形成药物颗粒,冷却后得到具有缓释作用的球形聚集体,此外,也可以在室温的非水溶性溶剂中用蜡溶液制得球形聚集体<sup>[51]</sup>。

由于水溶性药物会在外水相损失,故不能用 o/w 型乳剂技术包裹药物。通常采用以下两种方法包裹亲水性药物,一种基于使用外油相,另一种基于使用 w/o/w-熔融分散技术形成微粒。

用于化疗栓塞的 5-氟尿嘧啶巴西棕榈蜡微球,是用外相为硅油的熔融分散工艺制备的<sup>[52]</sup>。将药物分散于熔融的巴西棕榈蜡中,在其熔点 (85℃) 以上的温度乳化入硅油。所得乳剂通过添加冷硅油并将烧杯浸入冰水浴使冷却固化,之后通过离心将微粒从油相中分离出来,用环己烷洗涤以除去硅油。5-氟尿嘧啶是一种亲水性药物,外水相可导致药物分配,从而降低包封率。然而即使用硅油作外相,也只有不到 5% 的药物能被包入巴西棕榈蜡微球。这是因为熔融蜡对药物晶体的润湿性差,导致药物晶体损失到硅油外相。为了改善熔融蜡对药物晶体的润湿性,可向蜡中添加表面活性剂。

为了包裹水溶性药物,有人开发了一种基于外水相的复乳技术,以取代外油相<sup>[53]</sup>,可以避免油和乳化蜡之间不必要的相互作用,如蜡的溶胀和溶解、终产物的洗涤以及油相的回收。与聚合物通过 w/o/w-溶媒蒸发法包裹水溶性药物形成微粒的过程相类似,应用熔融蜡取代有机聚合物溶液。将热的盐酸仿麻黄碱水溶液乳化入熔融的巴西棕榈蜡中,然后将此 w/o 型乳剂乳化入一个热的外水相中。内外水相的温度都必须保持在蜡的熔点以上,以防止过早凝结,确保形成乳剂。蜡凝结后形成微粒。高包封率的关

键在于,用超声法形成超细的内相小滴,用蜡作为内外相的扩散屏障,尽可能减少药物在外水相的分配。由于药物在外水相的溶解度高,必须尽可能缩短小滴 (微粒) 与连续水相的接触时间,以防止药物损失,在其成形后几分钟内就将其分开。

一般说来,将蜡相乳化入一个热的外相可防止过早凝结。然而磺胺甲噁唑-日本合成蜡微粒,是将药物分散于熔融蜡,再将蜡相缓缓注入预冷却的外水相制备而得<sup>[54]</sup>。3min 后过滤,将微粒分离出来。蜂蜡微粒通过转相技术制备而得,将单油酸山梨酯和聚山梨酯-80 加入含药物的熔融蜡相,在转相前先形成 w/o 型乳剂。温度越高,所用的连续相越多,冷却速度越慢,混合速度越快,所得微粒越小<sup>[55]</sup>。

制备脂质纳米粒混悬液,可以采用高压乳匀法将熔融或溶解药物的脂质相的粒径减小至胶束的范围<sup>[56,57]</sup>。待凝结或溶剂蒸发后,得到纳米粒。纳米粒的混悬液可以通过冷冻干燥或喷雾干燥制成粉末。纳米粒可以作为水溶性差的药物的载体,并可以在更长的时间内达到控释效果。然而,由于粒径过小,所以颗粒表面积很大。除非载药量非常低,否则溶出会很快。

## 8.2 用喷雾干燥和喷雾凝结法制备微粒

与有机聚合物溶液相类似,含药的有机蜡溶液可用喷雾干燥法制成缓释微粒<sup>[58]</sup>。药物可以溶解或分散于有机蜡溶液中。喷雾干燥是一步完成的快速干燥工序,可以规模化生产,能用于对热敏感的药物。使用有机溶剂,由于其有害性、易存在溶剂残留和费用较高,不受欢迎。而熔融物黏度低,可以不用有机溶剂,采用喷雾凝结含药的蜡熔融物的方法来制备蜡微粒。

磺胺乙基氮二唑-氢化蓖麻油微粒,可以采用喷雾凝结法,用离心轮雾化器制备<sup>[59]</sup>。然后将蜡粉末混浮于水中,以制备口服缓释混悬液。下面将对采用离心轮雾化器时,不同的工艺和处方因素对粒子大小的影响进行讨论<sup>[60]</sup>。粒子的大小与进料速率呈正比,与进料的黏度和转速呈反比。

许多出版物中都对用喷雾凝结法制备磺胺乙基氮二唑-蜡微粒进行了评价。影响药物释放的最重要的因素是蜡的种类<sup>[61]</sup>。John 和 Beeke 研究了表面活性剂对药物从喷雾凝结的蜡微粒中释放的影响<sup>[62]</sup>。使用 USP 白蜡、一种合成的蜡状酯及这两种蜡的 1:1 混合物作为缓释骨架。微粒的粒径可以用喷嘴的口径来控制,喷嘴越大,喷出的粒子越大,溶出速度越慢。4% 的单油酸聚山梨酯可显著软化粒子,并促进润湿,因此使药物释放加快。然而表面活性剂用量在 10% 左右时,药物释放速率最慢。可能是因为粒子变黏,导致结块,从而使可释放药物的总表面积减少。表面活性剂的添加使微粒能压成片剂,而不含表面活性剂的微粒则较难<sup>[63]</sup>。不含表面活性剂的微粒黏附在冲头的表面,使片剂高度易碎。无需加入添加剂,可以制得不崩解的蜡骨架片。

有报道用喷雾凝结技术可先制备苦味药物瑞莫必利的

微粒，再制成矫味的混悬液<sup>[64]</sup>。由于药物在水中有良好的溶解性，微粒成形于外油相。然而蜡和油载体的种类都没有公开。

在脂质给药系统中，在制剂制备过程中和之后的储存过程中，都会发生多晶型转变。有人用 DSC 法和扫描电子显微镜评价了以甘油酯和磷脂为辅料，以喷雾干燥和喷雾凝结技术制备的脂质微球的转晶型行为<sup>[65-67]</sup>。喷雾干燥过程中，溶剂的快速蒸发可影响脂质载体的结晶，并得到不同的多晶型结构。相似的，在喷雾冷凝和熔融物固化过程中，脂质也可以形成不同的多晶型，这取决于脂质类型和冷却速度。甘油酯的多晶型形式主要有  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\beta'$  型。快速凝结通常会得到不稳定的  $\alpha$  型。熔融物首先转变为  $\alpha$  型和  $\beta'$  型，然后才是  $\beta$  型， $\beta$  型代表甘油三酯转变为最稳定的形式。

喷雾工艺，特别是喷雾凝结技术，可通过 320℃/min 快速冷却熔融样品来模拟。纯的三硬脂酸甘油酯以 10℃/min 加热的 DSC 热图显示出一个代表  $\beta$  型的单吸热峰。在熔融物快速冷却后重新加热，可以观察到一个代表  $\alpha$  型的单吸热峰和一个代表  $\alpha$  型重结晶成  $\beta$  型的放热峰，还有一个  $\beta$  型的吸热峰。喷雾干燥的硬脂酸甘油三酯微丸的 DSC 热图与熔融退火的样品图类似。由于溶剂被快速除去，因此在喷雾干燥过程中发生了晶型转化。然后在不同温度下储存微丸，以观察不同的储存温度对晶型转化的影响。将储存温度升高到 37℃，会导致不稳定多晶型向稳定多晶型的完全转化， $\alpha$  型的熔化吸热峰消失。研究不同乳化剂（如卵磷脂或单甘油酯）的影响，以阻止或延迟不稳定型向稳定的  $\beta$  型转化、向处方中加入卵磷脂能延迟转型。甘油酯的类型（组成和链长）、溶剂、药物包裹，都影响多晶型的转化，转化速率和微粒表面结构。喷雾凝结脂质微丸的光滑表面归因于不稳定的多晶型形式。不稳定的  $\alpha$  型有各种细小的晶体结构，这使得样品表面光滑。 $\beta$  型和  $\beta'$  型的晶体较大，导致微丸的结构不规则。在高温老化过程中，脂质微丸由于转型而失去了其表面的光滑结构。

用脂肪酸聚甘油酯和氢化棉籽油（HCSO）、硬脂酸、硬脂醇、单硬脂酸甘油酯等作为载体，用转盘来干燥凝结，制备了一种新型的口服控释微球<sup>[68]</sup>。药物的释放与蜡的疏水性相关，释放率为硬脂醇>硬脂酸>单硬脂酸甘油酯>巴西棕榈蜡>氢化棉籽油。向 HCSO 中加入的乳糖量增加，由于其具有滤取作用，使药物释放增加。

喷雾凝结法制备蜡微粒时，一种新的以超声为能源的雾化器，可以替代传统的雾化器<sup>[69]</sup>。

## 参考文献

- Bennett, H. Industrial Waxes, Vol. I-Natural and Synthetic Waxes, Vol. II-Compound Waxes and Technology; Chemical Publishing Company; New York, 1975.
- Wade, A.; Weller, P. J. Handbook of Pharmaceutical Excipients; American Pharmaceutical Association, The Pharmaceutical Press; London, Washington, 1994.
- Lechter, C. S. Waxes. Encyclopedia of Chemical Technology; Kirk-Othmer, Ed.; John Wiley & Sons; New York, 1984; 24, 466-481.
- Gunstone, F. D.; Harwood, J. L.; Padley, F. B. The Lipid Handbook; Chapman and Hall; London, 1986.
- Knowlton, J.; Pearce, S. Handbook of Cosmetic Science and Technology; Elsevier; Amsterdam, 1993; 21-32.
- Warth, A. H. The Chemistry and Technology of Waxes; Reinhold Publishing Corporation; New York, 1956.
- Kolattukudy, P. E. Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes; Elsevier; Amsterdam, 1976.
- In United States Pharmacopeia, USP23 NF18; The United States Pharmacopeial Convention; Rockville, MD, 1995.
- Asker, A. F.; Motawi, A. M.; Abdel-Khalek, M. M. A Study of Some Factors Affecting the In-Vitro Release of Drug from Prolonged Release Granulations. Part 1. Effect of Method of Preparation. Pharmazie 1971, 26, 170-172.
- Asker, A. F.; Motawi, A. M.; Abdel-Khalek, M. M. A Study of Some Factors Affecting the In-Vitro Release of Drug from Prolonged Release Granulations. Part 2. Effect of Dissolution Retardant. Pharmazie 1971, 26, 213-214.
- Asker, A. F.; Motawi, A. M.; Abdel-Khalek, M. M. A Study of Some Factors Affecting the In-Vitro Release of Drug from Prolonged Release Granulations. Part 3. Effects of Particle Size, Enzymatic Contents of Pepsin and Pancreatin, Bile and Ionic Concentration. Pharmazie 1971, 26, 215-217.
- El-Shanawany, S. Sustained Release of Nitrofurantoin from Inert Wax Matrixes. J. Control. Rel. 1993, 36, 11-19.
- Ghali, E. S.; Klinger, G. H.; Schwartz, J. B.; Drug Dev. Ind. Pharm. 1989, 15, 1311-1328.
- Miyagawa, Y.; Okabe, T.; Yamaguchi, Y.; Miyajima, M.; Sato, H.; Sunada, H. Controlled-Release of Diclofenac Sodium from Wax Matrix Granule. Int. J. Pharm. 1996, 138, 215-224.
- Miyagawa, Y.; Sato, H.; Okabe, T.; Nishiyama, T.; Miyajima, M.; Sunada, H. In Vivo Performance of Wax Matrix Granules Prepared by a Twin-Screw Compounding Extruder. Drug Dev. Ind. Pharm. 1999, 25, 429-435.
- Foster, T. P.; Parrott, E. L. Effect of Processing on Release from an Inert, Heterogeneous Matrix. Drug Dev. Ind. Pharm. 1990, 16, 1309-1324.
- Foster, T. P.; Parrott, E. L. Release of Highly Water-Soluble Medicinal Compounds from Inert, Heterogeneous Matrixes. I; Physical Mixture. J. Pharm. Sci. 1990, 79, 806-810.

18. Foster, T. P.; Parrott, E. L. Release of Highly Water-Soluble Medicinal Compounds from Inert, Heterogeneous Matrixes. II; Melt. *J. Pharm. Sci.* 1990, 79, 938–942.
19. Remunan, C.; Bretal, M. J.; Nunez, A.; Vila Jato, J. L. Accelerated Stability Study of Sustained-Release Nifedipine Tablets Prepared with Gelucire®. *Int. J. Pharm.* 1992, 80, 151–159.
20. Boles, M. G.; Deasy, P. B.; Donnellan, M. F. Design and Evaluation of Sustained-Release Aminophylline Tablet. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993, 19, 349–370.
21. Huang, H. -P.; Mehta, S. C.; Radebaugh, G. W.; Fawzi, M. B. Mechanism of Drug Release from an Acrylic Polymer-Wax Matrix Tablet. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83, 795–797.
22. De Brabander, C.; Vervaet, C.; Fiermans, L.; Remon, J. P. Matrix Mini-Tablets Based on Starch/Microcrystalline Wax Mixtures. *Int. J. Pharm.* 2000, 199, 195–203.
23. Dakkuri, A.; Schraeder, H. G.; DeLuca, P. P. Sustained Release from Inert Wax Matrixes. II; Effect of Surfactants on Tripeleminamine Hydrochloride Release. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67, 354–357.
24. Foster, T. P.; Parrott, E. L. Constant Release Rate from Inert Heterogeneous Matrixes by Means of Position-Dependent Loading. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16, 1633–1648.
25. Collins, A. E.; Deasy, P. B. Bioadhesive Lozenge for the Improved Delivery of Cetylpyridinium Chloride. *J. Pharm. Sci.* 1990, 79, 116–119.
26. Wang, P. Y. Lipids as Excipient in Sustained Release Insulin Implants. *Int. J. Pharm.* 1989, 54, 223–230.
27. Kaewvichit, S.; Tucker, I. G. The Release of Macromolecules from Fatty Acid Matrices: Complete Factorial Study of Factors Affecting Release. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46, 708–713.
28. Khan, M. Z. I.; Tucker, I. G.; Opdebeek, J. P. Cholesterol and Lecithin Implants for Sustained Release of Antigen; Release and Erosion In Vitro, and Antibody Response in Mice. *Int. J. Pharm.* 1991, 76, 161–170.
29. Khan, M. Z. I.; Tucker, I. G.; Opdebeek, J. P. Evaluation of Cholesterol-Lecithin Implants for Sustained Delivery of Antigen: Release In Vivo and Single-Step Immunisation of Mice. *Int. J. Pharm.* 1993, 90, 255–262.
30. Opdebeek, J. P.; Tucker, I. G. A Cholesterol Implant Used a Delivery System to Immunize Mice with Bovine Serum Albumin. *J. Control. Rel.* 1993, 23, 271–279.
31. Walduck, A. K.; Opdebeek, J. P.; Benson, H. E.; Prankerd, R. Biodegradable Implants for the Delivery of Veterinary Vaccines; Design, Manufacture and Antibody Responses in Sheep. *J. Control. Rel.* 1998, 51, 269–280.
32. Gao, Z.; Crowley, W. R.; Shukla, A. J.; Johnson, J. R.; Reger, F. Controlled Release of Contraceptive Steroids from Biodegradable and Injectable Gel Formulations; In Vivo Evaluation. *Pharm. Res.* 1995, 12, 864–868.
33. Walker, S. E.; Ganley, J. A.; Bedford, K.; Eaves, T. The Filling of Molten and Thixotropic Formulations into Hard Gelatin Capsules. *J. Pharm. Pharmacol.* 1980, 32, 389–393.
34. McTaggart, C.; Wood, R.; Bedford, K.; Walker, S. E. The Evaluation of an Automatic System for Filling Liquids into Hard Gelatin Capsules. *J. Pharm. Pharmacol.* 1984, 36, 119–212.
35. Doelker, C.; Doelker, E.; Buri, P.; Waginaire, L. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1986, 12, 1553–1565.
36. Proceedings of the 15th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, Basel, Switzerland, Aug 15–19, 1988, The Controlled Release Society, Illinois 1988, No. 223, 390–391.
37. Bodmeier, R.; Paeratakul, O.; Chen, H.; Zhang, W. Formation of Sustained Release Wax Matrices Within Hard Gelatin Capsules in a Fluidized Bed. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1990, 16, 1505–1519.
38. Jones, D. M.; Percel, P. J. Coating of Multiparticulates Using Molten Materials. *Multiparticulate Oral Drug Delivery*; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 113–142.
39. Jozwiakowski, M. J.; Jones, D. M.; Franz, R. M. Characterization of a Hot Melt Fluid Bed Coating Process for Fine Granules. *Pharm. Res.* 1990, 7, 1119–1126.
40. Barthelemy, P.; Laforêt, J. P.; Farah, N.; Joachim, J. Compritol® 888 ATO: An Innovative Hot-Melt Coating Agent for Prolonged-Release Drug Formulations. *E. J. Pharm. Biopharm* 1999, 47, 87–90.
41. Bhagwatwar, H.; Bodmeier, R. The Coating of Drug-Loaded Sgura Beads with Various Wax Formulations. *Pharm. Res.* 1989, 6, PT 713–S-73.
42. Bhagwatwar, H. M. S. Thesis; The University of Texas at Austin: Austin, 1991.
43. Bagaria, S. C., Ph. D. Dissertation; Rutgers University, The State University of New Jersey: New Brunswick, 1986.
44. Blythe, R. H. Sympathomimetic Preparation, US Patent 2, 738, 303, March 13, 1956.
45. Rosen, E.; Swintosky, J. V. Preparation of A<sup>35</sup>S Labelled Trimeprazim Tartrate Sustained Action Product for Its Evaluation in Man. *J. Pharm. Pharmacol.* 1960, 12,



L

- 237T—244T.
46. Heimlich, K. R.; MacDonnell, D. R. Method of Preparing Sustained Release Pharmaceutical Pellets and Product Thereof, US Patent 3, 119, 742, January 28, 1964.
47. Peters, D.; Goodhart, F. W.; Lieberman, H. A. Sustained Release Dosage in the Pellet Form and Process Thereof. US Patent, 3, 492, 397, January 27, 1970.
48. Bodmeier, R.; Wang, J.; Bhagwatwar, H. J. Process and Formulation Variables in the Preparation of Wax Microparticles by a Melt Dispersion Technique I. Oil-in-Water Technique for Water-Insoluble Drugs. Microencapsulation 1992, 9, 89—98.
49. Adeyeye, C. M.; Price, J. C. Development and Evaluation of Sustained-Release Ibuprofen-Wax Microspheres. II. In Vitro Dissolution Studies. Pharm. Res. 1994, 11, 575—579.
50. Adeyeye, C. M.; Price, J. C. Development and Evaluation of Sustained-Release Ibuprofen-Wax Microspheres. I. Effect of Formulation Variables on Physical Characteristics. Pharm. Res. 1991, 8, 1377—1383.
51. Kawashima, Y.; Ohno, H.; Takenaka, H. Preparation of Spherical Matrixes of Prolonged Release Drugs from Liquid Suspensions. J. Pharm. Sci. 1981, 70, 913—916.
52. Benita, S.; Zouai, O.; Benoit, J. -P. 5-Flourouracil; Carnauba Wax Microspheres for Chemoembolization; An in Vitro Evaluation. J. Pharm. Sci. 1986, 75, 847—851.
53. Bodmeier, R.; Wang, J.; Bhagwatwar, H. J. Process and Formulation Variables in the Preparation of Wax Microparticles by a Melt Dispersion Technique. II. w/o/w Multiple Emulsion Technique for Water-Soluble Drugs. Microencapsulation 1992, 9, 99—107.
54. Kowarski, C. R.; Volberger, B.; Versanno, J.; Kowarski, A. Am. J. Hosp. Pharm. 1964, 21, 409—410.
55. Draper, E. B.; Becker, C. H. Some Wax Formulations of Sulfaethylthiadiazole Produced by Aqueous Dispersion for Prolonged-Release Medication. J. Pharm. Sci. 1966, 55, 376—380.
56. Lucks, S.; Müller, R. Medication Vehicles Made of Solid Lipid Particles (Solid Lipid Nanospheres) SLN. PCT Application, WO93/05768 April 1, 1993.
57. Westesen, K.; Siekmann, B. Process for Producing Detergent Tablets. PCT Application, WO94/20072 March 17, 1994.
58. Asker, A. F.; Becker, C. H. Some Spray-Dried Formulations of Sulfaethylthiadiazole for Prolonged-Release Medication. J. Pharm. Sci. 1966, 55, 90—94.
59. Robinson, M. J.; Swintosky, J. V. J. Am. Pharm. Assoc. 1959, 48, 473—478.
60. Scott, M. W.; Robinson, M. J.; Pauls, J. F.; Lantz, R. J. Spray Congealing: Particle Size Relationships Using a Centrifugal Wheel Atomizer. J. Pharm. Sci. 1964, 53, 670—675.
61. Cusimano, A. G.; Becker, C. H. Spray-Congeaed Formulations of Sulfaethylthiadiazole (SETD) and Waxes for Prolonged-Release Medication. J. Pharm. Sci. 1968, 57, 1104—1112.
62. John, P. M.; Becker, C. H. Surfactant Effects on Spray-Congeaed Formulations of Sulfaethylthiadiazole-Wax. J. Pharm. Sci. 1968, 57, 584—589.
63. Hamid, I. S.; Becker, C. H. Release Study of Sulfaethylthiadiazole (SETD) from a Tablet Dosage Form Prepared from Spray-Congeaed Formulations of SETD and Wax. J. Pharm. Sci. 1970, 59, 511—514.
64. Sjöqvist, R.; Graffner, C.; Ekman, I.; Sinclair, W.; Woods, J. P. In Vivo Validation of the Release Rate and Palatability of Remoxipride-Modified Release Suspension. Pharm. Res. 1993, 10, 1020—1026.
65. Eldem, T.; Speiser, P.; Hincal, A. Optimization of Spray-Dried and -Congeaed Lipid Micropellets and Characterization of the Surface Morphology by Scanning Electron Microscopy. Pharm. Res. 1991, 8, 47—54.
66. Eldem, T.; Speiser, P.; Altörfer, H. Polymorphic Behavior of Sprayed Lipid Micropellets and Its Evaluation by Differential Scanning Calorimetry and Scanning Electron Microscopy. Pharm. Res. 1991, 8, 178—184.
67. Eldem, T.; Speiser, P.; Hincal, A. Proceedings of the 15th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials Basel Switzerland, Aug 15—19, 1988, The Controlled Release Society, Illinois No. 247, 1988, 436—437.
68. Akiyama, Y.; Yoshioka, M.; Horibe, H.; Hirai, S.; Kitamori, N.; Toguchi, H. J. Novel Oral Controlled-Release Microspheres Using Polyglycerol Esters of Fatty Acids. Control. Rel. 1993, 26, 1—10.
69. Rodriguez, L.; Passerini, N.; Cavallari, C.; Cini, M.; Sancin, P.; Fini, A. Description and Preliminary Evaluation of a New Ultrasonic Atomizer for Spray Congealing Process. Int. J. Pharm. 1999, 183, 133—143.

(张柳译)



## 老年人用药剂量和剂型

Cheryl A. Wiens

University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

Carol A. Borynec

University Hospital, Edmonton, Alberta, Canada

### 人口统计

老年人通常是指超过 65 岁的个体，他们的体质差异极大，有的身心健康，而有的却极度虚弱，只能长期呆在护理机构里。

目前，美国 65 岁以上的老年人口超过 12%<sup>[1]</sup>，而这些人所用的药大约占总处方的 1/3<sup>[2]</sup>。通常，老年患者使用 4~5 种药物，超过 50% 的人使用非处方药，使用的药物甚至比在长期护理机构的人群还多。

老年人更易遭受慢性疾病和多种疾病折磨，因此，需要长期接受药物治疗。考虑到老年患者较高的药物使用频率，很有必要关注老年人用药的剂量和剂型。

### 伴随年龄的生理变化

虽然我们不认为疾病的形成是年龄增长的正常变化，但是有许多生理变化可能使老年人倾向于患上疾病（表 1）。以前曾对大多数与年龄有关生理变化做综述<sup>[3,4]</sup>。因为伴随老化过程生理的改变也一起发生，所以药物的药理学和药效学也发生变化。

表 1 老年人中与年龄有关的生理变化

生理系统	变化
身体组成成分	无脂肪的体重 ↓ 脂肪 ↑ 身体含水量 ↓
心血管	心脏泵血量 ↓ 应激反应 ( $\beta$ 受体迟钝) ↓
中枢神经系统	外周神经传导速度 ↓ 大脑的质量和体积 ↓
内分泌	激素分泌的更年期改变 ↓ 糖尿病、甲状腺萎缩的影响 ↑
消化系统	分泌 ↓ 胃排空速度 ↓ 肠内转运的时间 ↓ 肝脏的体积和血流量 ↓
泌尿生殖器	阴道萎缩，前列腺增生
免疫	细胞介导免疫 ↓
肺	弹性，胸腔壁的依从性 ↓ 肺泡表面 ↓

续表

生理系统	变化
肾脏	肾单元 ↓ 肌酐清除 ↓ 肾脏血流量 ↓ 肾小球滤过率 (GFR) ↓
感官的变化	晶状体的适应性调节 ↓
骨骼	骨骼的骨容量 ↓
皮肤和头发	皮肤的水合作用 ↓ 真皮的厚度 ↓

注：↓表示降低；↑代表增加。

### 药物动力学

药物动力学是有关身体如何处置药物的一门学科，当身体随年龄变化时，对药物吸收、分配和代谢的能力也会明显地改变。令人遗憾的是，有时候很难预测年龄对某些人的影响到底有多大，因此，给药剂量不能仅基于年龄而定。药物动力学可以分解为四个过程：①吸收（药物通过胃肠道、黏膜或者皮肤）；②在整个身体药物的分配；③代谢（通常通过肝脏）；④排泄（大多数通过肾）。

#### 1. 吸收

对老年人而言，在药物吸收方面似乎没有变化<sup>[3,5,6]</sup>。皮肤干燥可能减少局部给药的吸收。当口服给药时，胃酸分泌的减少可以影响某些药物的吸收；不过，不一定所有的老年患者均如此。影响吸收的其他方面的改变可能包括饮食的改变、唾液分泌的减少或使用假牙<sup>[3]</sup>。吸收一般取决于患者的其他疾病状态<sup>[3]</sup>。例如，一位患者有充血性心力衰竭，并带有严重的胃溃疡，那么药物和营养物将很少通过胃肠道被吸收。此时吸收的减少并非与年龄有关，而是由伴随身体组织的或胃肠道的疾病引起的。

#### 2. 分布

年龄老化引起的生理变化将引起脂肪的增加和无脂肪肌肉的下降<sup>[3,5,6]</sup>。脂溶性药物在老年人身体里可能分布更广，在身体停留更长，而由于无脂肪物质的下降，水溶性药物的分布容积更小了。

另外，药物分布也取决于与血浆蛋白的结合力<sup>[6,7]</sup>。最常见的蛋白质是白蛋白，主要结合酸性药物如苯妥英。另一种常见的是  $\alpha_1$  酸性糖蛋白，是急性状态的反应物，它对

## L

碱性的药物有很强的亲和力，如利多可因。当考虑药物分布时，考虑蛋白质水平最重要的是考察个体的健康状况。仅考虑年龄因素，年长患者的蛋白质水平只有略微下降。然而，慢性炎症疾病状态可能会明显增加  $\alpha$ -1 酸性糖蛋白，从而减少血液中游离药物的含量。当考虑白蛋白时，将慢性疾病状态和营养状况考虑在内很重要。营养摄入少将引起白蛋白水平降低，进而引起血液中游离药物含量较高。在大部分情况下，较高的血药浓度将不会引起明显的临床反应，因为肝脏通常将代偿调节升高的药物浓度，储存并代谢多余的药物。然而这对治疗指数低的药物却很重要。药物如华法林需要在很窄的治疗范围内仔细监测来保持国际标准化比值（INR）。在此例中，华法林的量即使增加一点点，反应也会比预测的大得多。

其次，药物组织蛋白的亲和力也将影响药物在老年人体内的分布。例如，胺碘酮与组织蛋白结合力强，大大增加了体内分布容积。在老年或长期患病的患者身上，组织蛋白的改变或功能下降能影响药物在血浆中的水平。

最后，药物的相互作用可以将药物从蛋白质结合中置换出来而影响游离药物的水平。考虑到老年人服药较多，很可能出现药物从蛋白质中置换出来的情况。然而，药物从蛋白质中置换的相互作用并没有像药物代谢的相互作用那样在临床上受到重视。

### 3. 代谢

肝脏的血流量将随年龄增大而降低，但总体上这似乎不会影响肝实质的代谢能力。依赖肝脏血流量降解代谢的药物，可能会有一些代谢延迟<sup>[3,5,6]</sup>，I 型代谢反应会有降低，但 II 型不一定降低<sup>[6]</sup>。I 型代谢反应涉及通常药物代谢所需的氧化/还原反应。II 型代谢反应，包括结合反应，对老年人似乎维持不变。这也就是说，在选择药物时，II 型代谢的药物优于 I 型代谢的药物。身体虚弱或者长期患病的老人，I 型和 II 型代谢都有降低。然而，仅仅年龄还不足以引起 II 型药物代谢的下降，所以在预测患者的代谢能力时，考虑到长期疾病状态或生活方式（如饮食、吸烟、酒精摄入等）都很重要<sup>[3,5,6]</sup>。患者饮食不健康或者生活方式消极（如吸烟和酗酒），则肝的代谢储存容易下降，由于

相对过量（或者不能代谢标准剂量的药物），易导致药物的不良反应。尽管老年人很少仅仅因为年龄变化而产生代谢能力的变化，但是推荐按以上的原则进行给药<sup>[6]</sup>。

### 4. 排泄

肾脏的功能通常随年龄增大而下降<sup>[3,6]</sup>。但是无法预测哪些患者肾功能没有下降，尽管有人预测约 30% 的老年人肾功能没有改变。预测肾功能最常用的数学方法是 Cockcroft-Gault 方程<sup>[8]</sup>，用此方程考查年龄中的哪些因素将引起肾功能下降。遗憾的是，这个方程对老年的、虚弱的或女性患者的预测不是很准确。而且，预测虚弱患者的肾功能很困难。应仔细监测人体对药物的反应和不良反应以避免药物过量。对以下几种临床情况，预测肾功能很困难：肌肉少的营养不良患者，因此具有较低的血清肌酐；截肢的患者；肾功能不稳定（即肌酐没有达到稳态）的患者。

老年人使用经肾脏代谢的药物需比年轻的患者减量或者减少服用次数。然而，在很多老人亚群中，很难预测精确给药测量，包括很老的（大于 85 岁）或虚弱的患者。在这些人群中，可以通过观察临床症状的改善，或毒性症状的出现来监视药物的反应<sup>[3,5,6]</sup>。监测药物在稳态的水平可能也是必需的。

## 药效学

资料表明，药效在老年患者上也有改变<sup>[5,9]</sup>，然而却没有像药动学的改变那样被很好地研究或详细说明。药效学涉及人体对药物响应的变化。可能的机制包括<sup>[9]</sup>：

- 受体密度的改变；
- 受体亲和力和受体性质的改变；
- 受体后的变化（交换信号的耦合或放大的改变）；
- 受体的脱敏作用；
- 负反馈作用的改变；
- 靶组织内在性质的改变。

如果在开处方时没有考虑到这些变化，那么在体内稳态平衡下，这些改变将引起重大的损伤或不利的结果（表 2）。

表 2 老年人稳态平衡机制的改变

改变的功能	机制	药物的例子
抗凝作用	肝脏产生凝血因子缺乏 食物摄入的不足	抗凝血剂 溶解血栓剂
心律失常	心脏的超敏感性	抗心律失常药
更高的认知作用	中枢性胆碱传递 神经细胞的损失 受体的下调	中枢抗胆碱药 受体激动剂的刺激物
体位性低血压	$\beta$ 受体响应的钝化 动脉分支的变化 自律神经系统的变化 受体的下调	降压药 三环类抗抑郁药 安定药 利尿剂

续表

改变的功能	机制	药物的例子
姿态控制	在纹状体的 D2 受体 ↓ 摇晃的危险 ↑	镇静催眠药
迟发性运动障碍	神经元多巴胺合成的削弱	传统的安定药 长期安定药的治疗
温度调节	温度调节机制的缺乏： 颤抖 ↓，新陈代谢速度 ↓，血管收缩 ↓， 口渴反应 ↓，对温度的主观感觉 ↓	药物影响意识，灵活性，肌肉活力，血管收缩机制 中枢神经药物、吩噻嗪类、巴比妥盐、苯并二氮类、三 环类抗抑郁药、麻醉药、酒精
内脏肌肉功能	视觉紊乱（瞳孔自律反应） 膀胱不稳定（膀胱容量，逼尿肌收缩） 肠动力下降	抗胆碱药

### 灵敏度的改变

由于药效学的改变，老年人可能易于对很多不同种类

的药物敏感<sup>[5, 9~11]</sup>。由于老年敏感性的升高或降低，适时监测和调整特定药物的剂量是很重要的（表 3）。

表 3 药物作用效果敏感性改变

药物	效果的变化	建议
血管紧张素转化酶抑制剂	血压降低更敏感 增加高钾症的危险	低首剂量
一类抗心律失常药	清除的半衰期更长	低首剂量
三类抗心律失常药	清除的半衰期更长	低首剂量
抗胆碱药	增加抗胆碱作用的敏感性，增加混乱的危险	如果可能就避免
安定药	增加迟发性运动障碍和运动失调的危险 低强度的药物更易引起混乱	低首剂量
β-阻断剂	血压降低更敏感	低首剂量
苯并二氮类	延长清除的半衰期，镇定作用更大	使用短效亲水性药物，如去氧羟安定、劳拉西泮
皮质类固醇	增加肠道并发症的敏感性，增大骨质疏松症的危险	低首剂量，尽可能减少治疗周期
地高辛	降低分布体积	低首剂量，降低维持剂量
利尿剂	由于肾功能下降，反应性下降	加强监控肾功能，电解质
非甾体类抗炎药	增加胃肠道并发症的危险性	仅在口服对乙酰氨基酚后使用，建议使用胃肠道保护剂和 COX-II 阻断剂
阿片类药	增加作用敏感性，延长清除的半衰期	低首剂量
选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂	延长清除的半衰期	避免使用氟西汀
三环类抗抑郁药	增加抗胆碱能神经的作用，无节奏作用	优选地昔帕明和去甲替林（毕二级胺的耐受性好）
法华林	增加抗凝血效果	低首剂量

## 药物不良反应/药物不良事件

正如 Lamy 等<sup>[12]</sup>指出的那样，在药物不良反应的定义（ADR 或 ADE）上有很多争议。世界卫生组织对药物不良反应的定义是在人们诊断、预防或治疗疾病中普通剂量下发生的药物有害或不想要的反应。药物不良反应也可定义为在临床应用中超出预期疗效而产生的药物治疗不需要的效果。药物不良事件定义为由药物产生的对患者有害和不想要的结果，如实验室畸形、征兆、症状等。在老年门诊患者中大约 30% 经历不良反应，占入院治疗的 10%~20%<sup>[12~14]</sup>。在入院的患者中，10%~25% 的患者会受不良

反应影响<sup>[15]</sup>。研究表明，大部分的不良反应是可以避免的<sup>[12]</sup>。遗憾的是，许多患者（大约 1/3）不能从不良反应中完全康复。

不良反应也因相关的花费而备受关注。不良反应增加了住院时间和死亡率，而这也大大增加了不良反应治疗的费用。遭遇不良反应的老年人比没有遇到不良反应的老年患者拜访医师的频率要高<sup>[16]</sup>。年老的患者可能不会向专业医护人员提及不良反应的问题<sup>[12]</sup>，而是作为正常治疗反应的一部分。一直以来，在老年人群中的不良反应报道偏少。

很难评估不良反应对老年人的危险，由于其他并存疾病或年龄的原因，在临床实验中往往把老人排除在外。即使在开处方时也有偏向，发生不良反应潜在危险的药物可

不会开给年老的患者。这就有可能低估不良反应在整个服药人群中的真正发生率<sup>[5,12,17]</sup>。

经历药物不良反应的危险与诊断、处方药物类型及使用药物的数量有关<sup>[5,12~14,17]</sup>。最大的影响因素是使用多种药物,它和多种疾病共存有关。研究表明当服用药物数量减少时,不良反应也会降低<sup>[12]</sup>。这也表明,不良反应的危险将随着药物数量的增加成指数形式增长<sup>[14]</sup>。

如果将年龄单独作为引起不良反应的独立影响因素,很易引起争议;但是由于生理变化而引起的药物动力学或药效学的改变,老年人很容易产生不良反应。一些研究表明,当控制患者的临床状况、药物数量和住院时间等混杂因素时,仅年龄不能预测不良反应<sup>[12,17]</sup>。

我们应注意到撤除药物也会产生不良反应<sup>[18]</sup>。某些机构(如长期护理机构)鼓励医生停用某些药物,其中一些已经使用好几年了。如果这些治疗的更改不恰当或太快,可能引起患者的不良反应<sup>[18,19]</sup>。

引起不良反应的最普通药物有心血管类药物、阿司匹林、非甾体抗炎药、神经系统的药物。然而,这些也是在老年人中使用最广泛的药物<sup>[14]</sup>。

对如何预防老年人不良反应的研究仍不够充分,考虑到大部分不良反应是A型,即剂量相关型,所以大部分的不良反应是可以预防的。有必要进行额外的研究减小老年人中不良反应的发生率。Atkin等<sup>[14]</sup>发表的综述提供了以下建议,如由医师来做好历史记录的保存以减少患者使用药物的数量。其他的建议包括要求患者将他们的药带到医疗机构,并使用他们年龄段的低风险药物。

有许多不同的方法可以评价和鉴定不良反应事件。以下列出的表格能解释药物不良事件的征兆或症状。表4是指那些具有相同症状但有可能被误诊为不良反应事件的疾病状态。表5列出的是和特定药物的毒性或副作用相关的其他症状。最后,表6介绍的是通常引起不良反应的药物分类。

表4 与不良反应有关的症状

症状	潜在的环境	药物引起不良反应
神志不清/精神狂乱	低血糖症, 甲状腺机能减退, 维生素B <sub>12</sub> 缺乏, 尿毒症	抗胆碱能和(或)有此性质的药 安定药, 抗组胺剂, 抗帕金森病药, 止痉药, 眼部用药, OTC的睡眠/过敏症药, 三环类抗抑郁药 其他药物 止痛剂/非甾体抗炎药, 抗惊厥药, 皮质类固醇类(大剂量), 地高辛, H <sub>2</sub> 阻断剂, 胰岛素, 肌松药, 麻醉药, 作用于神经系统的药物(抗焦虑药, 抗抑郁药, 安定药), 止痛药, 磺酰胺类
抑郁	血钙过多, 亚甲状腺机能亢进	催眠药, 胺碘酮脂溶性 $\beta$ 阻断剂
疲劳	CHFGI出血, 贫血, 甲状腺机能减退	利尿类 $\beta$ 阻断剂, 催眠药, 肌松药
摔倒/昏厥	中枢神经结构的损害, 脱水, 低血钾, 心律失常	抗心律失常药, 左旋多巴, 利尿剂, 抗高血压药, 三环类抗抑郁药, 镇痛药, 安定药, 低血糖症, 酒精

表5 常见的不良反应

副反应	可能的药物
抗胆碱能反应	抗组胺剂
狂躁症	三环类抗抑郁药
口干, 便秘, 尿液潴留, 心动过速, 视觉紊乱	治疗尿失禁药
模糊	抗抗胆碱作用的效果
干眼症	治疗青光眼药, 润目药
锥体外系作用	安定药
震颤, 假性帕金森氏症, 静坐不能	止吐药(甲氧氯普胺)
镇静	安定药, 止痛药/催眠药, 三环类抗抑郁药, 肌松药
直立性低血压	抗高血压药, 利尿剂, 左旋多巴, 三环类抗抑郁药

表6 一般影响老年人行动的药物种类

药物种类	行动上的不良反应
抗高血压药	体位性低血压
安定药	体位性低血压, 镇静, 锥体外系反应, 摔倒
麻醉药	镇静, 神志不清, 协调能力下降
镇静药/催眠药	镇静, 虚弱, 神志不清, 协调能力下降
三环类抗抑郁药	体位性低血压, 镇静, 心率失常, 摔倒

## 1. 摔倒

摔倒在老年人中很常见而且影响因素很多<sup>[20~22]</sup>。大家都很关注跌倒患者，因为其并发症是严重的。并发症包括骨折、软组织受伤、不能行走、住院后得的疾病、社会福利机构收容，甚至有人死于肺炎等并发症<sup>[20]</sup>。很难知道到底有多少比例的患者摔倒，因为许多摔倒没有引起伤害，也从没被报道。

治疗摔倒的花费是惊人的<sup>[21,22]</sup>，包括入院治疗和急性护理、康复，和社会福利机构收容。在美国据对 65 岁以上的人的统计，治疗摔倒花费 126 亿美元。摔倒也会给患者带来巨大的情绪影响，引起患者失去安全感并只能待在家里。

尽管某些疾病会引起摔倒，但是研究显示药物是引起摔倒的独立因素。最常见的药物是苯并二氮类，因为它们能增加摔倒和胯骨折的发生<sup>[23]</sup>。有人研究了剂量（剂量越高，越易引起摔倒）、使用的持续时间和苯并二氮类的类型（如长效药物）之间的关系。其他引起摔倒危险的药物是三环类抗抑郁药，选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂和阿片类镇痛剂<sup>[23,24]</sup>。

医生开具了处方，持续使用这些药物是完全适当的。为保证药物安全使用，患者应小心避免摔倒，鼓励使用额外预防措施。高风险药物只能在必要时使用，而不作为常规使用，这将有希望减少整体用药量。在老年人中，如果必须使用苯并二氮类，可用 II 型苯并二氮类代谢物（如奥沙西泮或劳拉西泮）替代。

## 2. 精神失常

由药物引起的认知变化经常发生，是影响患者、患者的家庭及照料者的不良反应。神志失常通常作为入院症状，10%~15% 年长患者符合精神失常的诊断标准<sup>[25,26]</sup>。接受各种各样手术的年长患者身上也经常发生神志失常，包括心脏直视手术和臀部骨折修复（可能有高达 50% 的比例）<sup>[25,26]</sup>。诊断为神志失常的后果很可怜。在 1 个月内，死亡率高达 14%；而在 6 个月内死亡率为 22%。如果患者幸存，认知症状的改变可能在出院后持续 3 个月。此外，这些患者将有增加其他并发症的危险，包括延长住院时间、机体功能下降和需送去专门机构收容。

药物治疗可能会导致或至少恶化许多患者的精神失常疾病。研究显示混合用药是导致精神失常的一个危险因素。有许多不同类型的药物可能导致精神失常，许多具有抑制副交感神经的作用，而其他的引起精神失常的机制尚不清楚（表 4）。对于精神状态急剧变化或精神失常的患者，必须在医药治疗上重新评估，包括审查药物的使用。典型的做法是，需停止服用所有的药物并仅在考虑挽救生命时才能重新使用。需要停止长期疗程给药，因为这有助于治疗精神失常并能找出鉴定哪种药物可能是引起精神失常<sup>[25~27]</sup>。

## 3. 药物间的相互作用

药物间的相互作用在老年人中是很普遍的，部分可归于此人群中大量处方药物的使用。药物间的相互作用可被认为是一种不良反应，并且随治疗药物的数量的增加而增强<sup>[28]</sup>。药物间的相互作用也是住院的普遍原因<sup>[29]</sup>。

年长的人特别易于受相互作用的影响，由于老年人生理的变化、多位医师同时开药、服用较多 OTC 药物、不能坚持复杂的治疗方案，并且易患多种疾病，这些均使药物治疗复杂化。

药物间的相互作用是很难被监控的。药物治疗是必需的，须以患者不经受不良反应并得到合适的药物疗效为原则来处理药物间的相互作用。

药物间的相互作用有不同类型。一类是药物动力学或药效学上的相互作用。药物动力学上的相互作用为药物吸收、代谢或排泄的相互作用。药物也能通过竞争蛋白质结合而取代其他药物。许多药物动力学的相互作用，通过竞争或相互作用发生在称之为 CYP450 的细胞色素酶系中<sup>[28]</sup>。众多的同工酶及其亚型已被发现。每一种同工酶负责代谢特定的药物。这些同工酶能被特定疾病所抑制或被其他药物激活。药效学的相互作用涉及协同和竞争作用和一种药物作用于另一种药物。药效学上相互作用的研究通常在年轻的体质好的患者做，这也许不能反映一般在年长患者身上发生的情况。这也很难预测相互作用的程度。然而，一些研究已经得出如何调整相互作用的药物的剂量的明确建议。

表 7 罗列了药物分类和临床重要药物的相互作用。这张表格不是很完善，读者可参考关于动力学的药物相互作用的章节。

表 7 常见的在老年人中使用的药物-药物相互作用

药物	药物相互作用	机制/效果	处理
止痛剂			
非甾体抗炎药	华法林	增加出血的危险	使用华法林避免用 NSAID
	皮质类固醇	增加液体滞留	使用皮质类固醇避免用 NSAID
阿片类药物		增加胃肠道出血的危险性	尽可能使用选择性 COX- II 抑制剂
	酒精	增加中枢神经的抑制；呼吸	避免使用多种中枢神经抑制剂；伴随使用时，减少中枢神经抑制剂的药量
	安定药	抑制	
	三环类抗抑郁药		
	止痛药		

续表

药物	药物相互作用	机制/效果	处理
<b>乙酰胆碱酯酶抑制剂</b>			
乙酰胆碱酯酶抑制剂 (如多奈哌齐、特可林、酒石酸卡巴拉汀)	吩噻嗪类安定药 三环类抗抑郁药 抗副交感神经作用的药物 乌拉胆碱	抗胆碱药增加乙酰胆碱酯酶抑制剂	当使用乙酰胆碱酯酶抑制剂时避免使用抗副交感神经作用药
	琥珀酰胆碱	增加类胆碱的副作用 (如反胃、腹部痉挛)	当使用乙酰胆碱酯酶抑制剂时避免使用乌拉胆碱
多奈哌齐	酮康唑 奎纳定	增大肌松作用 抑制多奈哌齐的代谢	在手术前, 停止乙酰胆碱酯酶抑制剂 检测多奈哌齐的毒性, 不依据经验的减少剂量
特可林	氟伏沙明 甲氧咪胍 对苯二酚 茶碱	降低特可林的代谢而导致其浓度升高 抑制茶碱的代谢	避免使用相互干扰的药物, 监测特可林的毒性症状 当使用特可林时, 茶碱减量
<b>抗生素</b>			
氨基糖苷类抗生素	利尿剂 顺铂 万古霉素	增加脱水, 肾脏的损伤 增加对肾脏危害的危险	密切监测肾功能, 水和作用 密切监测肾功能
喹诺酮	铁补充抗酸剂 (包含铝-钙或镁)	削弱喹诺酮的吸收	避免在服用喹诺酮 2h 内服用这些药物
环丙沙星	茶碱 咖啡因	减少茶碱、咖啡因的清除; 增加中枢神经系统的毒性	减少茶碱的剂量; 避免咖啡因的摄入
磺胺类药	华法林 磺酰脲类 苯妥英 甲氧蝶呤	把药物从蛋白质结合置换出来; 瞬间的药物浓度和毒性增加	监测被置换出来药物的毒性
异烟肼	苯妥英 卡巴米嗪 酒精	阻断代谢-增加抗惊厥药的毒性 增加肝中毒的危险性	在异烟肼治疗中检测靠惊厥药的水平; 在异烟肼治疗中避免使用酒精
<b>抗惊厥药</b>			
苯妥英	胺碘酮 甲氧咪胍 氟西汀 氟康唑 酮康唑 卡巴米嗪 利福平 茶碱	增加苯妥英的血药浓度 降低苯妥英的血药浓度	监测苯妥英的毒性; 减少所需剂量 增加苯妥英的剂量达到治疗浓度
卡马西平	异烟肼 红霉素 甲氧咪胍 地尔硫草 苯妥英 苯巴比妥 茶碱	增加肝毒性 增加卡巴米嗪的血药浓度, 毒性 降低卡巴米嗪的血药浓度	联用时, 密切监测肝功能 监测卡巴米嗪的毒性; 可能要减少剂量 按需增加卡巴米嗪的剂量
加巴喷丁	抗酸剂 (基于铝-镁元素的)	降低伽马氨基丁酸的血药浓度	在服用伽马氨基丁酸 2~6h 内不服用抗酸剂

续表

药物	药物相互作用	机制/效果	处理
丙戊酸	卡巴米嗪	降低丙戊酸的药浓度；酶诱导	按需增加丙戊酸的剂量
	阿司匹林	增加丙戊酸的游离药物浓度及毒性危险	从头开始监测丙戊酸的毒性，如果毒性继续，减量
	利福平	减少丙戊酸的清除	服用利福平时，丙戊酸减量
抗抑郁药			
SSRI（西酞普兰，氟西汀，氟伏沙明，舍曲林，帕罗西汀）	单胺氧化酶抑制剂	增加单胺氧化酶的毒性（如发作，神志不清，高烧）	避免 SSRI 与单胺氧化酶抑制剂联用
	三环类抗抑郁药	增加三环类药物的浓度	避免三环类与 SSRI 联用
氟西汀	安定	增加安定的血药浓度和效果	如果可能，避免在老年人中使用安定；如果使用氟西汀，减少用量
	曲唑酮	增加曲唑酮的血药浓度	曲唑酮以小剂量开始；尽可能减少曲唑酮的剂量
舍曲林	临床上无明显的相互作用		
氟伏沙明	阿司咪唑	增加阿司咪唑的血药浓度，增加心律不齐的危险	避免阿司咪唑和氟伏沙明的联用；使用交替的抗组胺剂
	苯并二氮类	增加苯并二氮类的血药浓度	减少苯并二氮类的剂量
	茶碱、咖啡因	增加茶碱、咖啡因的血药浓度	茶碱的剂量大约减少 1/3；避免使用咖啡因
	华法林	增加华法林的作用，增加了出血的危险	监测 INR，尽可能减少华法林的剂量
帕罗西汀	苯妥英	降低苯妥英的作用	监测苯妥英；按需增加苯妥英的剂量
西酞普兰	甲氟咪唑	增加西酞普兰的血药浓度	监测西酞普兰的不良反应；尽可能减少剂量
	唑类（如酮康唑、氟康唑）和红霉素	增加西酞普兰的血药浓度	监测西酞普兰的不良反应在抗生素使用中
奈法唑酮	苯并二氮类（阿普唑仑、三唑仑、米达唑仑）	增加苯并二氮类的浓度	减少苯并二氮类的剂量（50%~75%）
苯丙胺	左旋多巴	增加苯丙胺的作用效果	监测左旋多巴的毒性；尽量减少左旋多巴的剂量
	抗惊厥药	如果抗惊厥药用来控制无序癫痫，那么苯丙胺将增大发作的危险	有癫痫病史的患者避免使用苯丙胺
维拉法辛	单胺氧化酶抑制剂	增加毒性的危险	服用维拉法辛时避免使用单胺氧化酶抑制剂
米氮平	临床上无明显的相互作用		
三环类抗抑郁药	抗副交感神经作用的药物（如抗组胺剂、低强度安定剂）	增加抗副交感神经的作用响应	避免抗副交感神经的作用的三环类药物（当三环类药物必需时，用去甲替林、地昔帕明）；避免与其他抗副交感神经的作用的药物联用
心血管类药			
抗高血压类	NSAID	降低肾功能，尿液潴留；增加血压	尽可能避免 NSAID 的使用；当必需时使用最小剂量
	血管扩张剂（如硝酸甘油）	增加血压突降；骨质疏松和摔倒的危险	仅是更低血压使用；使用非药物防治猝发
ACE-I	保钾利尿药、钾离子补充剂	增加钾离子主流；有心律失常的危险	检测钾离子；当使用 ACE-I 避免使用保钾利尿剂
地高辛	胺碘酮	增加地高辛的血药浓度	低剂量的地高辛；更低剂量的胺碘酮
	利尿剂	低血钾症；地高辛毒性	监测钾离子浓度；必需时补钾

续表

药物	药物相互作用	机制/效果	处理
胺碘酮	华法林	增加华法林的浓度, 增强抗凝血作用	检测 INR; 减少法华林的剂量
	地高辛	增加地高辛的浓度; 增加地高辛毒性的危险	监测地高辛的浓度、毒性症状/征兆; 减少地高辛的剂量
	奎纳定	增加奎纳定游离药物浓度	减少奎纳定 30%~50% 的剂量
	普鲁卡因胺	增加普鲁卡因胺的浓度	当开始使用胺碘酮时, 普鲁卡因胺得剂量减少 30%
	苯妥英	增加苯妥英的浓度	监测苯妥英的浓度和毒性症状; 按需减少苯妥英的剂量
利尿剂	非甾体抗炎药/阿司匹林	降低体液流动, 将血压降低作用的响应减少到最小	在老人中尽可能避免使用 NSAID
	锂	竞争锂的清除; 增加锂的浓度	在使用锂时避免使用利尿剂; 按需减少锂的剂量
华法林	胺碘酮	增加抗凝作用	减少华法林的剂量
	非甾体抗炎药/阿司匹林	增加出血危险	在使用华法林时, 减少 NSAID 的剂量
	雌激素补充剂	药效相互作用; 雌激素的促凝血作用	需要增加华法林的剂量; 患者雌激素治疗不当, 将凝血障碍
	抗生素 (如磺胺甲氧基异恶唑, 环丙沙星, 氟康唑, 唑酮类)	增加华法林的浓度, 作用	在使用抗生素过程中仔细检测 INR; 按需降低华法林的浓度
内分泌类药			
甲状腺补充剂	钙补充剂	降低 L-甲状腺素的生物利用度	在空腹时服用甲状腺素
	硫酸铝, 考来烯胺		
	考来替泊		
	铁补充剂		
	氢氧化铝		
磺酰脲类 (如优降糖、格列吡嗪)	胺碘酮	改变甲状腺素的需求 (增加或降低)	监测甲状腺的功能; 按需补充甲状腺素
	$\beta$ 阻断剂	可能阻断低血糖的响应	选择心脏选择性 $\beta$ 阻断剂 (如美托洛尔阿替洛尔); 培养患者以发汗检测
	氟康唑	增强血糖过低的响应	监测血糖过低的症状/征兆; 搭配饮食或降低磺酰脲类的剂量
	高剂量水杨酸 磺胺药物		
甲福明二甲双胍	造影剂	乳酸中毒或器官障碍	当服用甲福明二甲双胍避免使用造影剂; 避免甲福明二甲双胍的药物毒性
	甲氧咪胍	降低排泄, 增加甲福明二甲双胍的浓度	当服用甲福明二甲双胍时, 避免使用甲氧咪胍; 考虑使用雷尼替丁, 法莫替丁
胃肠道用药			
甲氧咪胍	卡马西平	阻止代谢	尽可能避免使用卡巴米嗪; 使用雷尼替丁、法莫替丁
	安定		
	格列吡嗪		
	苯妥英, 茶碱		
	三环类抗抑郁剂 华法林		
质子泵阻止剂	益曲康唑	减少 pH 依赖的药物吸收	监测药物的响应; 按需增加剂量
	铁盐		
	酮康唑		



续表

药物	药物相互作用	机制/效果	处理
甲氧氯普胺	多巴胺替代品	甲氧氯普胺对多巴胺有对抗作用	对帕金森病患者避免使用甲氧氯普胺
	帕金森病的药物		
	抗副交感神经作用药物	药物减缓胃肠道运动对抗甲氧氯普胺的作用	避免使用对抗性药物
	麻醉药		
神经抑制剂			
安定药	抗帕金森病药物	安定可能会加剧或引起帕金森	对患帕金森病的患者避免使用安定药（除了氯氮平）
	抗高血压药	增加体位性低血压的危险	监测患者的血压；尽可能减少剂量防止摔倒，头昏眼花
氟哌啶醇	卡巴米嗪	增加代谢，降低氟哌啶醇的效果	按需增加氟哌啶醇的剂量
呼吸系统			
茶碱	苯妥英	降低血浆中茶碱的浓度	按需增加茶碱的剂量
	利福平		
	卡巴米嗪		
	别嘌醇	增加血浆中茶碱的浓度	减少茶碱的剂量防止毒性
	甲氧咪胍		
	环丙沙星		
	红霉素		
皮质类固醇	抗糖尿病药	类固醇增加高血糖症；血糖浓度失控	密切监测血糖浓度；按需增加治疗血糖过低的药物或加胰岛素
	NSAID	增加胃肠道不适；增加胃肠道出血的危险	尽可能避免同时用药
	两性霉素 B，袢利尿剂	增加低血钾的危险	检测钾离子浓度，并且如需采用替代品

#### 4. 药物-食物的相互作用

表 8 列出了常用药物和食物的相互作用。这张表格并不包含所有情况，而是突出了许多临床重要的食物-药物相互作用<sup>[30]</sup>。

目前关注的食品包括柚子汁，研究显示它通过 CYP450 3A4 同工酶与许多不同的药物存在相互作用。这能增加药物的浓度，如环孢菌素、二氢吡啶类钙离子通道拮抗剂、咪达唑仑、三唑仑、阿司咪唑<sup>[31]</sup>。

表 8 老年人临床重要的食物和药物相互作用

药物分类	相互作用	临床意义	建议
抗感染抗菌药			
阿奇霉素	食物减少吸收	可能会降低抗生素浓度达 50% 左右	服药和进食至少相隔 2h
红霉素	食物减少吸收；食物可能减少一些胃肠道的混乱	大部分患者有胃肠道的不适，可能优选饭后服红霉素，然而这会减少药物吸收	如果患者能忍受，服药和进食间隔 2h；如果有胃肠道不适，少量小餐后服药
氟喹诺酮类（如环丙沙星）	奶制品、铁、多价阳离子化合物减少氟喹诺酮类的吸收	由于螯合作用致使喹诺酮类无效	服任一食物至少 2h 才给药
甲硝唑	含酒精制品可能引起如双硫仑的反应	患者可能会有恶心、呕吐、血管舒张的经历	当服用甲硝唑时，避免使用含酒精制品
青霉素（口服）	食物减少吸收	可能会降低青霉素的浓度	饭后至少 2h 服药
四环素	奶制品、铁、多价阳离子化合物减少四环素的吸收	由于螯合作用使四环素无效	服用任一含阳离子的食物至少 2h 才给药
抗真菌类			

续表

药物分类	相互作用	临床意义	建议
灰黄霉素	高脂肪的食物增加吸收	如果没有脂肪性食物，灰黄霉素给药将无效	与脂肪性食物一起给药
酮康唑	可能的保胰岛素作用	相同的胰岛素量，患者将经历低血糖	观察减少胰岛素的要求
抗结核药			
异烟肼	可能减少维生素 B <sub>6</sub> ；食物减少异烟肼的吸收	外周神经作用将彰显；减少异烟肼的吸收将导致治疗失败	每天补充维生素 B <sub>6</sub> 50mg；服任一食物至少 2h 后才给药
利福平	可能减少维生素 D 的作用	个体将易骨软化	在长期治疗中确保充足的维生素和钙
抗凝血剂			
华法林	维生素 K-绿叶蔬菜和绿茶对抗华法林	大量维生素 K 能降低 INR，导致华法林治疗失败	避免过量消费绿叶蔬菜；一旦华法林的抗凝物稳定，不要改变食物
抗惊厥药			
苯妥英	由于增加维生素 D 活性代谢物的代谢，减少了维生素 D	在长期抗惊厥的治疗中，有报道骨软化和佝偻病；在以下情况（如日照缺乏），额外的风险因素将增加	确保充足的维生素 D 补充剂，每天 400IU
	与药物一起流入肠道的食物结合苯妥英	肠道食物很大的降低苯妥英的吸收	当苯妥英给药，1h 内不吃食物
	减少叶酸的浓度	长起治疗可能是患者叶酸缺乏	如果患者长期使用苯妥英，密切监测齿龈增生和巨幼细胞性贫血；考虑 1mg 每天补充叶酸来预防
抗抑郁药			
MAO-I（如异唑肼、苯乙肼、苯环丙胺）	含酪胺的食物导致过量的交感神经刺激	可发展成高血压危期	避免老化的、发酵的、盐渍的或烟熏的食物
三环类抗抑郁药（如阿密曲替林，帕明，去甲替林）	由于减少唾液的产生，药物将阻止食物的咬碎；食物大体上会引起口腔干燥	可能引起吞咽食物困难	服无糖的糖果、冰块，或拒绝无糖的口香糖
抗组胺剂			
扑尔敏、茶苯海明、苯海拉明	由于减少唾液的产生，药物将阻止食物的降解；食物大体上会引起口腔干燥	可能引起吞咽食物困难	服无糖的糖果、冰块，或咀嚼无糖的口香糖
自主神经用药			
麻黄素，伪麻黄碱，安非他明	咖啡因可能会引起神经过敏和失眠	就寝时服用，影响更大	当使用有刺激性的药物时，将每天咖啡因的摄入量减到最小
心血管用药			
ACE-I（如赖诺普利、依那普利、雷米普利）	含钾盐的替代品	含钾的替代品和 ACE-I 能产生高血钾症	避免含钾盐的替代品
卡托普利	食物减少卡托普利的吸收 高剂量 长期使用会锌缺乏	与食物同服将减少降血压的作用  最显著的个体至少服 150mg 每天；味觉损害为锌缺乏的标志	空腹服药和饭后 2h 服或每天定时服用  检测味觉损害；补充锌并不一定有益处
地高辛	高纤维、高胶质的食物延迟并减少吸收	可能将地高辛的益处减到最小	避免地高辛与高纤维的食物同服；每天定时给药

续表

药物分类	相互作用	临床意义	建议
保钾利尿剂（如氨苯蝶啶）	钾盐替代品可能导致增加钾的额外效果	大量的钾将导致心律失常	避免钾盐替代品
皮质类固醇			
氢化可的松、强的松、甲基强的松龙	与糖类一起，能减少葡萄糖的耐受性 甘油三酯和胆固醇可能增加	易见血糖浓度快速的、少量的升高；直到类固醇停止使用，葡萄糖的浓度才会正常 长期使用可加快动脉粥样硬化过程	监测糖尿病患者的血糖浓度 长期使用检测患者心脏疾病或升高甘油三酯和胆固醇的水平
治疗糖尿病药物			
胰岛素	酮康唑可能增强胰岛素作用	患者可能会经历在相同的剂量下更低的血药浓度	监测减少胰岛素的需求
甲福明二甲双胍	与维生素 B <sub>12</sub> 吸收的相互作用	患者易维生素 B <sub>12</sub> 缺乏	密切监测易维生素 B <sub>12</sub> 缺乏的患者
胃肠道药物			
米索前列醇	如空腹服药，增加胃肠道活动，恶心，疼痛	无食物服药，将剧烈地引起胃肠道副反应	与食物同服
硫糖铝	食物（蛋白质）减少硫糖铝与胃黏膜的结合	无效的结合导致胃溃疡缺乏保护	在就餐前至少 1h 服硫糖铝，有足够的时间结合胃黏膜
低脂溶性药物			
消胆胺	结合铁、叶酸、脂肪酸、维生素 A	消胆胺能明显地减少营养的吸收	长期使用消胆胺，补充维生素，监测铁的状态
洛伐他汀	与食物同服，增强吸收	如果空腹服用，降低脂溶性的作用将减到最小	与晚餐或小餐同服，将洛伐他汀的吸收最大化
肺部用药			
长效茶碱	高脂肪性进餐将影响吸收速率	提高茶碱的浓度可能引起心动过速、心悸、兴奋、震颤	避免与高脂肪性食物同服，当服用此药时改变食谱，或餐前 1h 服用
止痛药			
NSAID（如布洛芬、萘普生、吡罗昔康）	胃炎可能产生于直接的胃肠道接触（如炎症产生于栓剂或肠溶产品）	如空腹服药，可能发生严重的胃炎	与食物同服，将胃炎减少到最小
帕金森病用药			
抗副交感神经药物（如苯妥品、普环啉）	由于减少唾液的产生，药物将阻止食物的降解；食物大体上会引起口腔干燥	可能引起吞咽食物困难	服无糖的糖果、冰块，或咀嚼无糖的口香糖
左旋多巴	与蛋白质竞争吸收	左旋多巴药效最小化或无效	空腹或餐后 2h 服用或与无蛋白质食物同服
精神病用药			
锂	钠和锂竞争再吸收和清除	改变钠的摄入将改变锂的浓度	当锂稳定时，不要改变食谱

## 老年患者的药物使用问题

### 1. 遵从性

传统上称之为依从性，不恰当的服用药物称为不遵从

服药。然而，这些词语通常可互换使用。在老年患者中，不遵医嘱服药的比例是 25%~50%<sup>[32]</sup>。主观的不遵医嘱服药或有意决定不按医嘱服药，包括根本不服药或仅使用最少的剂量。有意或无意不规则服药的原因包括服药方式很难符合患者的生活习惯、疗效不确定、药物较贵或者患者无法自行给药<sup>[33,44]</sup>。最重要的是，如果患者不相信他们需

要药物治疗,那么他们很少愿意服药。

对不遵从服药的危险已进行了研究,发现包括:服药次数(如每天给药4次相对于每天给药1次);用药的频繁改变;药物(治疗的或一般的)的替代治疗;多种药物混用;令人不快的副作用;打开容器的困难性;费用;给药途径的困难性;患者教育或理解不够;认知,感官或身体上的障碍<sup>[31,33,34]</sup>。当有视力或活动性障碍的患者,再遇上以上的问题可能不能遵从服药。

改进依从性的因素包括让患者相信药物很重要,增加患者对药物有效性的信心,并经常去同一家诊所和药房<sup>[34]</sup>。

许多研究试图找到影响不遵从给药的参数。这些参数包括认知的阻碍(MMSE<24)、生理上的限制(Katz≥1)、较差的用药自我管理<sup>[35]</sup>。

当为老人开药时,需考虑到他们生理上的局限、视觉上的障碍、药物形状或颜色(区分的能力),和患者的信心<sup>[35,36]</sup>。请医疗保健专家评价使用某些给药装置的技巧,讨论如何增加服药的依从性都将有利于老年人用药。

为增强服药的依从性,已经对各种各样的增强依从性的方法进行研究<sup>[36~38]</sup>。这些办法包括时钟提醒装置、水泡包装、日历包装等。装置提供者觉得这些方法很大程度上协助了患者,否则他们将会对服药感到困惑或不能独立服用多种药物,从而增大了不良反应或不遵从服药的危险。也有人认为,这些方法应用时很困难,受益最大的通常是那些本无援助也能很好服药的患者。这两方面的观点都有研究数据的支持,对这个主题需要更多的研究。

即使有依从性帮助,患者也必须接受恰当地使用装置的咨询和指导<sup>[37,38]</sup>。这些办法的使用必须被推荐并经患者同意。例如,如果患者感觉使用水泡包装会减少他们的独立性,他们仍不可能增加依从性。然而,如果患者认同此方法有效并能节约他们的时间,他们更易于欣赏这些装置的帮助,将使用这些产品来增加服药的遵从性。患者的喜好、认同和理解仍然是增强遵从性的重要因素。必须考虑的额外因素是药物的疗效。如果患者由于副作用而停用药物,增强药物包装的依从性也不能改善服药情况。在考虑增强药物的依从性之前,需要仔细考虑无法遵从服药的原因<sup>[39]</sup>,因为可能根本不需要增强遵从性,如果患者认为自己被装置提供者看成是需要接受援助的人,这可能会得罪患者。

## 2. 多药治疗

多药治疗(polypharmacy)可简单地翻译成多种药物治疗。然而,临床上的解释通常是指多种药物以不恰当、不合逻辑或有害的方式应用于患者。

老年人得慢性病的概率较高,将服更多的药来治疗他们的疾病。因此非常容易迅速到达多药治疗的状态。风险因素包括多位医生、多种疾病和多个药房<sup>[40]</sup>。患者通常有许多抱怨,但是所开的处方却缺乏相应的诊断,只是用来应付抱怨而不是解决疾病。患者也使用多种非处方药,这

些非处方药可能没有监控,而且可能与处方药发生相互作用。还应考虑的是患者就诊多位医生,因为医生可能为患者开新处方时没有考虑其他药物。同样的,一些医生可能没有意识到他们的患者也看了其他的医生,使得有些处方难以检测。

尽管有些争议,但老年人的某些性格特征可能使他们偏向于使用更多的药物<sup>[36,40]</sup>。年长患者和他们的医生可能不愿意停用药物。通常,有这些观点的患者认为使用药物是必需的并且每次拜访医生都要开处方。这也可以联系到医务人员的态度,他们可能受迫于为患者开更多的药。最终,多药治疗可能在老年人中很普遍,因为他们通常从家里或朋友那得到药物,有时也是由于缺少不合理用药风险的常识。

## 3. 药片分剂量

药片分剂量在老年人群中是常见的<sup>[41]</sup>,通常是因为节约费用和为满足年轻患者生产更大剂量药品的需求。医生可能认为患者需要比典型剂量少得多的药物,经常会给患者开必须分劈的剂量。这通常用于在治疗过程中需要调整剂量的药物,如抗凝剂华法林。当药物由于耐药性不能从一开始就服用完全剂量时,分开药片通常很普遍。譬如说,在心肌梗死后使用 $\beta$ 阻断剂,在发作时仅对小剂量耐受,但起效需达到更大剂量。

这个问题已进行了少量的研究,但通常只集中在年轻人上<sup>[42]</sup>。分开药片的过程也不适用于老年人群,因为通常在年轻患者中做重复的分开药片的肌肉力量、疲劳度、劈分的持续时间的测定,这不能反映老年人在家里的情况。

## 4. 利用不足或给药不当

药物的利用不足或给药不当都是老年人的常见问题。这通常是由医务人员的常规简单处理、老年人缺少处理药物的常识以及缺少研究引起的<sup>[4]</sup>。包括高血压的治疗、适量的激素治疗、骨质疏松症和心肌梗死的治疗,以及脂肪的控制、止痛和抑郁症的治疗。

## 确定适合老年人给药的药物

研究者做了很多尝试来定性和定量“适合”老年人的药物。第一个这样的标准是由 Hanlon 开发的,被称为药物适当性指标(MAI)<sup>[43]</sup>。在美国退伍老兵人群中,此指标使用最为频繁。

Beers 等<sup>[44]</sup>罗列了在养老院人群中不适宜使用的药物明细表。他们最新的目录进一步描述了老年人应该使用的合适的药物剂量<sup>[44]</sup>。例如,地高辛建议每天给药0.125mg,因为多数老年患者或者中毒或无须为疗效而加大剂量。其他的明细表也被归纳<sup>[11]</sup>并有所更新<sup>[16]</sup>。这些明细表通常被认为是给药指南,在为老年人开药或设定剂量时可作为专业的判断使用。同时也在研究和开发其他的方法。Shelton 等已经写了有关不同装置的综述<sup>[45]</sup>。

## 1. 药物剂型

老年患者能使用任一种可用的剂型。仅从年龄角度,没有剂型不合适使用。老年人中最常用的剂型是口服给药,然而,其他的剂型可能会根据疾病状态使用。例如,慢性阻塞性肺病在老年人中普遍存在,给药途径一般选择吸入。因此,这些患者通常使用吸入剂。老年患者使用的另外一种剂型为眼药水。患有如关节炎、脑卒中后的虚弱、痴呆或其他机能上的损伤的老年患者对需要使用手部施力或协调的剂型很难给药。这些剂型的使用情况将在后面讨论。

## 2. 吸入剂

肺部疾病如 COPD 和哮喘在老年人群中普遍存在。这些疾病的治疗基础是使用吸入剂给药,有定量吸入剂、喷雾剂、计量吸入剂 (MDI)、碟式干粉吸入剂以及其他呼吸触发式吸入剂。这些装置经常需要患者视力好,手眼协调,手要用力压下吸入剂,并且对装置有全面的了解。但年龄本身就预示着缺乏使用技巧。然而,其他研究<sup>[46]</sup>发现随年龄增加的其他疾病状况是使用计量吸入剂的最主要障碍。缺乏手部力量的患者,如患风湿症或骨关节炎的患者,使用吸入剂时可能有困难。盲人或视力较差的患者使用吸入器或其他装置也会有困难。理解力的降低在老年患者中也很常见,并随年龄增长而降低。缺乏使用吸入剂的技巧有时是决定性的<sup>[46]</sup>。因此在开处方前,医生应该评估患者使用吸入装置的能力。对老年人而言,多次咨询和指导是掌握好技巧和恰当使用这些装置的必要条件<sup>[38, 46, 47]</sup>。

## 3. 眼药水

在老年人中,有些疾病治疗经常需要如眼药水这样的药物。许多老年患者也使用天然的眼泪替代产品来滋润眼睛。由此可见老年患者使用眼药水之常见,尽管眼部给药途径还有许多挑战和困难。被问到的大部分患者承认使用眼药水有困难<sup>[48]</sup>。老年人将手举过头顶有困难,这可能是由于关节炎或心血管功能失调引起的运动范围有限。滴加眼药水时,必须要向后靠或头向背部倾斜来确保眼药水不流出来。由于颈关节炎或颈项僵硬,这通常也很困难。准确无误地滴眼药水也是有难度的。研究了许多装置,但都不能使挤压药水更加容易<sup>[48]</sup>。患者很难挤压其底部来释放药水,一些患者没有使用正确的方法并且挤出太多的药液量。较难使用滴眼液的原因与上面所列的准确使用吸入器的原因类似。许多装置看似达到了目的,其实只是解决了老年患者的一部分问题。当患者不能遵从给药或滴药液不当使得预期疗效减小时,这些使用眼药水的困难通常会导导致治疗的失败。因此对使用技巧的评价和提供合适的帮助措施增强患者给药的遵从性显得非常重要,因为通常对眼部治疗除了使用眼药水别无选择。

## 结论

考虑到老年人群治疗的多样性和挑战性,我们需要认

识到随着年龄的增长老年人的生理也发生变化,如果给药时不考虑这个因素,很可能引起其他并发症。我们还应意识到由于老年患者病症较多,他们更易于受到不良反应或遇到更多的使用药物的相关问题,如遵从性。尽管每个患者情况不同,需单独对待,但在处理老年人给药时有些重要的原则需要考虑,以达到最好的给药剂量和合适的剂型。

## 参考文献

1. U. S. Census Bureau, U. S. A. Statistics in Brief—Population and Vital Statistics. <http://www.census.gov/statab/www/part1.html> (accessed July 26, 2000).
2. Ostrom, J. F.; Hammarlund, E. R.; Christensen, D. B. Medication Usage in an Elderly Population, *Med. Care.* 1985; 23, 157—164.
3. Lamy, P. P. Comparative Pharmacokinetic Changes and Drug Therapy in an Older Population, *J. Am. Geriatr. Soc.* 1982, 30 (11 Suppl.), S11—S19.
4. Hanlon, J. T.; Ruby, C. M.; Shelton, P. S.; Pulliam, C. C. *Geriatrics. Pharmacotherapy and Pathophysiologic Approach*, 4th Ed.; DiPiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., Posey, L. M., Eds.; Appleton & Lange: Stamford, CT, 1999; 52—61.
5. Montamat, S. C.; Cusack, B. J.; Vestal, R. E. Management of Drug Therapy in the Elderly. *New Engl. J. Med.* 1989, 321 (5), 303—309.
6. Parker, B. M.; Cusack, B. J.; Vestal, R. E. Pharmacokinetic Optimisation of Drug Therapy in Elderly Patients. *Drugs Aging* 1995, 7 (1), 10—18.
7. Grandison, M. K.; Boudinot, F. D. Age-Related Changes in Protein Binding of Drugs. *Clin. Pharmacokinet.* 2000, 38 (3), 271—290.
8. Cockcroft, D. W.; Gault, M. H. Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine. *Nephron* 1976, 16, 31—41.
9. Swift, C. G. Pharmacodynamics: Changes in Homeostatic Mechanisms, Receptor and Target Organ Sensitivity in the Elderly. *Br. Med. Bull.* 1990, 46 (1), 36—52.
10. Beers, M. H. Explicit Criteria for Determining Potentially Inappropriate Medication Use by the Elderly. *Arch. Intern. Med.* 1998, 157, 1531—1536.
11. McLeod, P. J.; Huang, A. R.; Tamblyn, R. M.; Gayton, D. C. Defining Inappropriate Practices in Prescribing for Elderly People: A National Consensus Panel. *Can. Med. Assoc. J.* 1997, 156 (3), 385—391.
12. Lamy, Peter P. Adverse Drug Effects. *Clin. Geriatr. Med.* 1990, 6 (2), 293—307.
13. Hanlon, J. T.; Schmadler, K. E.; Koronkowski, M. J.; Weinberger, M.; Landsman, P. B.; Samsa, G. P.; Lewis, I. K. Adverse Drug Events in High Risk Older Outpatients. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1997, 45, 945—948.

L

14. Atkin, P. A.; Veitch, P. C.; Veitch, E. M.; Ogle, S. J. The Epidemiology of Serious Adverse Drug Reactions Among the Elderly. *Drugs Aging* 1999, 14 (2), 141—152.
15. Lazarou, J.; Pomeranz, B. H.; Corey, P. N. Incidence of Adverse Drug Reactions in Hospitalized Patients, a Meta-Analysis of Prospective Studies. *J. Am. Med. Assoc.* 1998, 279, 1200—1205.
16. Veehof, L. J. G.; Stewart, R. E.; Meyboom-de Jong, B.; Haaijer-Ruskamp, F. M. Adverse Drug Reactions and Polypharmacy in the Elderly in General Practice. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1999, 55, 533—536.
17. Beyth, R. J.; Shorr, R. I. Epidemiology of Adverse Drug Reactions in the Elderly by Drug Class. *Drugs Aging* 1999, 14 (3), 231—239.
18. Gerety, M. B.; Cornell, J. E.; Plichta, D. T.; Eimer, M. Adverse Events Related to Drugs and Drug Withdrawal in Nursing Home Residents. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1993, 41, 1326—1332.
19. Graves, T.; Hanlon, J. T.; Schmader, K. E.; Landsman, P. B.; Samsa, G. P.; Pieper, C. F.; Weinberger, M. Adverse Events after Discontinuing Medications in Elderly Outpatients. *Arch. Intern. Med.* 1997, 157, 2205—2210.
20. Cumming, R. G. Epidemiology of Medication-Related Falls and Fractures in the Elderly. *Drugs Aging* 1998, 12 (1), 43—53.
21. Monane, M.; Avorn, J. Medications and Falls. *Clin. Geriatr. Med.* 1996, 12 (4), 847—858.
22. King, M. B.; Tinetti, M. E. Falls in Community-Dwelling Older Persons. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1995, 43, 1146—1154.
23. Leipzig, R. M.; Cumming, R. G.; Tinetti, M. E. Drugs and Falls in Older People—A Systematic Review and Meta-Analysis, I. Psychotropic Drugs. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1999, 47, 30—39.
24. Leipzig, R. M.; Cumming, R. G.; Tinetti, M. E. Drugs and Falls in Older People—A Systematic Review and Meta-Analysis, II Cardiac and Analgesic Drugs. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1999, 47, 40—59.
25. Inouye, S. K. Delirium in Hospitalized Older Patients. *Clin. Geriatr. Med.* 1998, 14 (4), 745—764.
26. Flacker, J. M.; Marcantonio, E. R. Delirium in the Elderly. *Drugs Aging* 1998, 13 (2), 119—130.
27. Moore, A. R.; O'Keeffe, S. T. Drug-Induced Cognitive Impairment in the Elderly. *Drugs Aging* 1999, 15 (1), 15—28.
28. Seymour, R. M.; Routledge, P. A. Important Drug-Drug Interactions in the Elderly. *Drugs Aging* 1998, 12 (6), 485—494.
29. Doucet, J.; Chassagne, P.; Trivalle, C.; Landrin, I.; Pauty, M. D.; Kadri, N.; Menard, J. F.; Bercoff, E. Drug-Drug Interactions Related to Hospital Admissions in Older Adults—A Prospective Study of 1000 Patients. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1996, 44, 944—948.
30. Thomas, J. A.; Burns, R. A. Important Drug-Nutrient Interactions in the Elderly. *Drugs Aging* 1998, 13 (3), 199—209.
31. Fuhr, U. Drug Interactions with Grapefruit Juice Extent, Probable Mechanism and Clinical Relevance. *Drug Safety* 1998, 18 (4), 251—272.
32. Morrow, D.; Leirer, V.; Sheikh, J. Adherence and Medication Instructions Review and Recommendations. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1988, 36, 1147—1160.
33. Conn, V.; Taylor, S. G.; Stineman, A. Medication Management by Recently Hospitalized Older Adults. *J. Community Health Nurs.* 1992, 9 (1), 1—11.
34. Stewart, S.; Pearson, S. Uncovering a Multitude of Sins; Medication Management in the Home Post Acute Hospitalisation Among the Chronically Ill. *Aust. NZ J. Med.* 1999, 29 (2), 220—227.
35. Ruscini, J. M.; Semla, T. P. Assessment of Medication Management Skills in Older Outpatients. *Ann. Pharmacother.* 1996, 30, 1083—1088.
36. Thwaites, J. H. Practical Aspects of Drug Treatment in Elderly Patients with Mobility Problems. *Drugs Aging* 1999, 14 (2), 105—114.
37. Cramer, J. A. Optimizing Long-Term Patient Compliance. *Neurology* 1995, 45 (Suppl 1), S25—S28.
38. Sexton, J.; Gokani, R. Pharmaceutical Packaging and the Elderly. *Pharm. J.* 1997, 259, 697—700.
39. Weintraub, M. Compliance in the Elderly. *Clin. Geriatr. Med.* 1990, 6 (2), 445—452.
40. Stewart, R. B.; Cooper, J. W. Polypharmacy in the Aged Practical Solutions. *Drugs Aging* 1994, 4 (6), 449—461.
41. Rochon, P. A.; Clark, J. P.; Gurwitz, J. H. Challenges of Prescribing Low-Dose Drug Therapy for Older People. *Can. Med. Assoc. J.* 1999, 160 (7), 1029—1031.
42. McDevitt, J. T.; Gurst, A. H.; Chen, Y. Accuracy of Tablet Splitting. *Pharmacotherapy* 1998, 18 (1), 193—197.
43. Hanlon, J. T.; Schmader, K. E.; Samsa, G. P.; Weinberger, M.; Uttech, K. M.; Lewis, I. K.; Cohen, H. J.; Feussner, J. R. A Method for Assessing Drug Therapy Appropriateness. *J. Clin. Epidemiol.* 1992, 45 (10), 1045—1051.

44. Beers, M. H.; Ouslander, J. G.; Rollinger, I.; Reuben, D. B.; Brooks, J.; Beck, J. C. Explicit Criteria for Determining Inappropriate Medication Use in Nursing Home Residents. *Arch. Intern. Med.* 1991, 151, 1825—1832.
45. Shelton, P. S.; Fritsch, M.; Scott, M. A. Assessing Medication Appropriateness in the Elderly: A Review of Available Measures. *Drugs Aging* 2000, 16 (6), 437—450.
46. Gray, S. L.; Williams, D. M.; Pulliam, C. C.; Sirgo, M. A.; Bishop, A. L.; Donohue, J. F. Characteristics Predicting Incorrect Metered-Dose Inhaler Technique in Older Subjects. *Arch. Intern. Med.* 1996, 156, 984—988.
47. Daniels, S.; Meuleman, J. Importance of Assessment of Metered-Dose Inhaler Technique in the Elderly. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1994, 42, 82—84.
48. Winfield, A. J.; Jessiman, D.; Williams, A.; Esakowitz, L. A Study of the Causes of Non-Compliance by Patients Prescribed Eyedrops. *Br. J. Ophthalmol.* 1990, 74 (8), 477—480.
49. Kane, R. L.; Ouslander, J. G.; Abrass, I. B. *Essentials of Clinical Geriatrics*, 4th Ed.; McGraw-Hill: New York, 1999.
50. Swonger, A. K.; Burbank, P. M. *Drug Therapy and the Elderly*; Jones and Bartlett Publishers: Boston, 1995.
51. Luisi, A. F.; Owens, N. J.; Hume, A. L. *Drugs and the Elderly. Reichel's Care of the Elderly Clinical Aspects of Aging*; 5th Ed.; Gallo, J. J., Busby-Whitehead, J., Rabins, P. V., Silliman, R. A., Murphy, J. B., Reichel, W., Eds.; Lippincott Williams & Wilkins: Baltimore, 1999; 59—87, Chap. 5.
52. Beyth, R. J.; Shorr, R. I. *Medication Use. Practice of Geriatrics*, 3rd Ed.; Duthie, E. H., Jr., Katz, P. R., Eds.; W. B. Saunders Company: Philadelphia, 1998; 38—47, Chap. 5.
53. Avorn, J.; Gurwitz, J. H. *Principles of Pharmacology. Geriatric Medicine*, 3rd Ed.; Cassel, C. K., Cohen, H. J., Larson, E. B., Meier, D. E., Resnick, N. M., Rubenstein, L. Z., Sorenson, L. B., Eds.; Springer: New York, 1997, 755—770, Chap. 5.
54. Schwartz, J. B. *Clinical Pharmacology. Principles of Geriatric Medicine and Gerontology*, 4th Ed.; Hazzard, W. R., Blass, J. P., Ettinger, W. H., Jr., Halter, J. B., Ouslander, J. G., Eds.; McGraw-Hill: New York, 1999; 303—331, Chap. 5.
55. Abrams, W. B.; Beers, M. H.; Berkow, R. *The Merck Manual of Geriatrics*, 3rd Ed.; Merck & Co. Inc.: Whitehouse Station; New Jersey, 2000.
56. Hansten, P. D.; Horn, J. R.; Koda-Kimble, M. A.; Young, L. Y. *Hansten & Horn's Managing Clinically Important Drug Interactions*; Applied Therapeutics Inc.: Vancouver, Washington, 1998.
57. Delafuente, J. C.; Stewart, R. *Therapeutics in the Elderly*, 3rd Ed.; Williams & Wilkins: Baltimore, 2000.
58. Kinirons, M. T.; Crome, P. *Clinical Pharmacokinetic Considerations in the Elderly—An Update. Clin. Pharmacokinet.* 1997, 33 (4), 302—312.

(周晓丽 羊臻 译)

# L

## 类脂在药剂学中的应用

Alan L. Weiner

Alcon Research, Ltd., Fort Worth, Texas, U. S. A.

### 类脂的作用

类脂在生物体中发挥着多种功用，如作为动植物体内结构元件的组成成分，充当运输工具和化学反应介质，并能提供能量和作为分子信使等。正是基于对这些功用的认识，人们将类脂作为辅料应用到药制剂中。脂质通过适当的方法可以形成多种多样的物理形态，比如溶液、混悬液、乳浊液、乳膏、凝胶或固体制剂。在生物体环境下，脂质-药物制剂将呈现出与游离药物不同的形态和分子大小，因此它们在体内的分布以及机体对它们识别的机制也不尽相同。这些差别可能正是剂型设计目的所在，也可能是不想要的。

总体上说，类脂在药剂学中的应用体现在以下四个方面：①以最佳的物理手段，改善处方工艺或增强药物的稳定性；②提高或降低细胞或机体对制剂中药物的吸收；③增强药物靶向的作用；④药物缓控释系统。本章将从处方、分析方法和产业化等多个方面探讨类脂作为药用辅料存在的问题和发展前景。

### 药物制剂中类脂的分类

图1为本章涉及的主要类脂的种类。所列的种类有脂肪酸及其盐、脂肪醇或胺、油脂和蜡质、磷脂、糖脂、中性脂和非线性链化合物（如甾醇）。

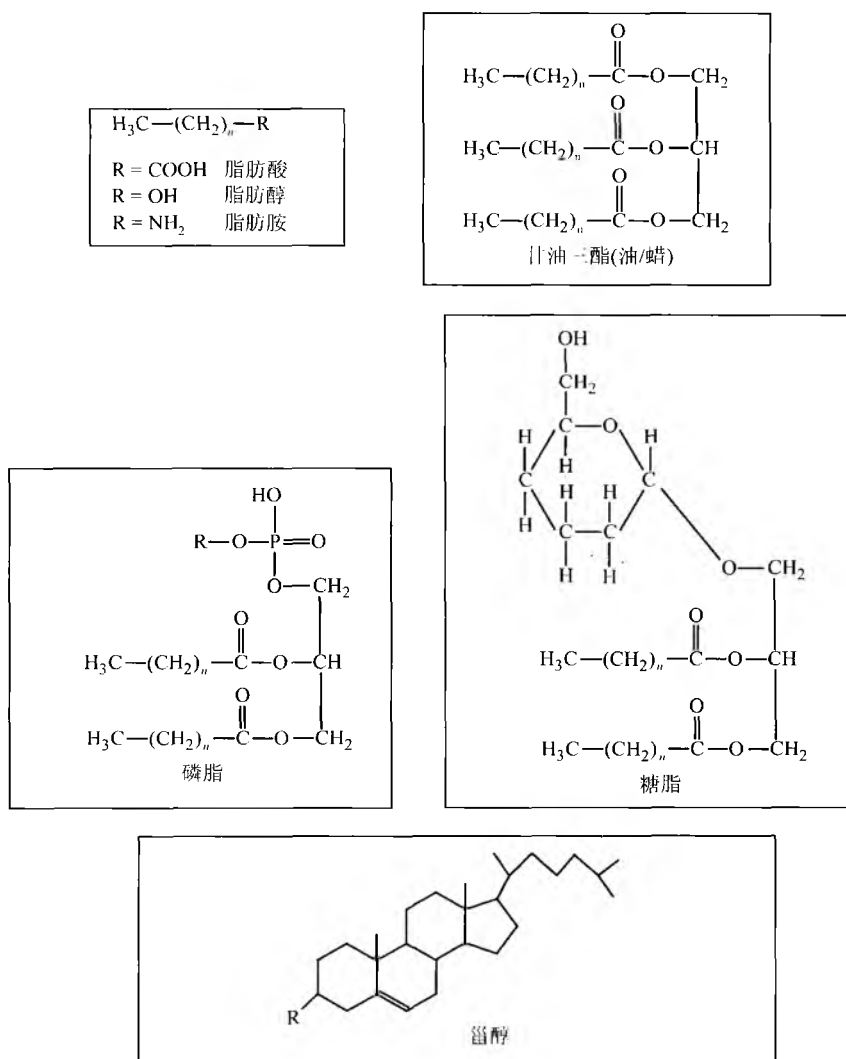


图1 主要类脂结构



## 1. 脂肪酸及其衍生物

脂肪酸、脂肪盐、脂肪醇和脂肪胺一直在制剂配方中有着广泛的应用,如作为化妆品、软膏和栓剂的基质,片剂中的包衣材料和吸入剂的载体材料。链长超过八的饱和脂肪酸为固态,而链长更长的聚合非饱和脂肪酸除双键共轭外则为液态。脂肪酸盐在片剂中有广泛的应用,通常包括镁、钙、铝等硬脂酸盐,与其他固体辅料间存在物理的相互作用和性质使它们成为理想的调节剂,如改善粒子的平均分布、可压性以及控制药物的释放。脂肪醇包括鲸蜡醇和棕榈醇,作为软膏或乳膏的软化剂及乳剂的改性剂被广泛使用。脂肪胺一般用作前体化合物,与药物分子通过键合反应产生亲脂性的药物衍生物。脂肪胺同脂肪酸一样,链长时为固体且不溶于水。最后是脂肪链醛类,这类化合物主要作为芳香剂和调味剂使用,其中以不饱和液态的脂肪醛使用最多。

## 2. 油类、蜡质和中性类脂

脂肪酸与甘油酯化后形成单、双、三甘油酯。根据置换脂肪酸数量及碳链长度和饱和度的不同,甘油酯以液态(油)和固态(蜡)两种形式出现。这类的产物有天然存在的或通过人工合成获得的,在市场上可以购买到各种各样的甘油酯。油脂在口服、局部或注射给药的制剂中具有载药和增溶作用。蜡目前被用于局部给药和口服制剂中,以改善制剂物理性质及控制药物的溶出。在市售的药物制剂中,常见的甘油酯有蓖麻油、氢化植物油、石蜡、棕榈蜡、白蜡、橄榄油和橄榄油乙酯、液体石蜡、凡士林、鲸蜡和蜂蜡等。中性类脂如类固醇在药物制剂中也同样重要,如胆固醇和胆固醇酯可增加脂质体的相变范围,使其更易制备和(或)乳化。

## 3. 磷脂类化合物

甘油酯的末端羟基被带有首基的磷酸修饰后即可形成磷脂。常见的磷脂首基有胆碱、乙醇胺、丝氨酸、肌醇和磷酸肌醇、甘油及甘油酯。同甘油三酯一样,甘油主链的第一位和第二位如果被不同的首基和脂肪酰基取代,可以生成种类繁多的磷脂。随凝胶向液晶转变的温度不同,磷脂的流动性明显不同(表1)。磷脂的溶解性与聚合的构象密切相关,而不是分子的化学功能。易形成胶束的单酰磷脂通常更易溶于水。一般来说,只要制备温度维持在相变温度或高于相变温度足够长的时间,就可以使二酰磷脂形成液晶混悬液。总的说来,因为磷脂是油水两亲性的,所以可以很好地充当乳化剂和分散剂。尽管磷脂应用于局部给药制剂中的情形最常见,但也一直应用于口服胶囊和注射用脂质体制剂中。

## 4. 糖脂化合物

糖脂是由半糖键合至甘油酯主链上所形成的化合物。一些典型的糖脂,比如糖基甘油酯或神经酰胺等在制剂中

并不常用,主要是因为其丰度低且合成成本较高,然而,糖基修饰可使类脂制剂具有靶向性。

表1 常见磷脂的相转变温度

头部基团	脂肪酸组分	相转变温度/℃
氢(磷脂酸)	二肉豆蔻酰	51
	二棕榈酰	67
胆碱	二油酰	-22
	天然(混合不饱和)	-15
	二月桂酰	-1.8
	二肉豆蔻酰	23
乙醇胺	二棕榈酰	41
	二硬脂酰	55
	二肉豆蔻酰	50
	二棕榈酰	66
甘油	二油酰基	-18
	二月桂酰	4
	二肉豆蔻酰	23
	二棕榈酰	41
丝氨酸	二硬脂酰	55
	天然(混合不饱和)	7
	二肉豆蔻酰	38
	二棕榈酰	51
鞘磷脂	天然	32
	二棕榈酰	41
	二硬脂酰	57

## 类脂构象

人们在20世纪早期就发现了类脂依数性和可溶性的性质。类脂分子曾被认为是以两亲性分子簇(类似穿孔砖)的形式在水中排列,而今这种排列方式则被更好地解释为胶束<sup>[1~3]</sup>。胶束现成为一种为人所熟知的典型的增溶技术,文献中已有详细的报道<sup>[4,5]</sup>。有关药物溶解和类脂对它的影响可从对普通乳剂和微乳增溶效应的研究中获得更多的了解<sup>[5~9]</sup>。

除了像胶束和乳剂的结构形式外,由类脂与水分子以不同结合方式形成的剂型也会呈现出不同的物理性质。这起因于向温性晶格中脂质的定向作用,这种定向可能是随机的,也可能是大范围有序的聚合结构(易溶的液晶)<sup>[10]</sup>。图2列举出几种具有胶束和乳剂/表面单分子层定向的类脂结构,这些都是被最早认识的一些微观结构。脂质分子也能紧密地包裹在一起,如双分子层一样,排列更规则。实际上,根据组成中组分的不同,脂质会形成不同的相图,相图中至少包括六个不同区域<sup>[11]</sup>。“整洁”或片层脂质体

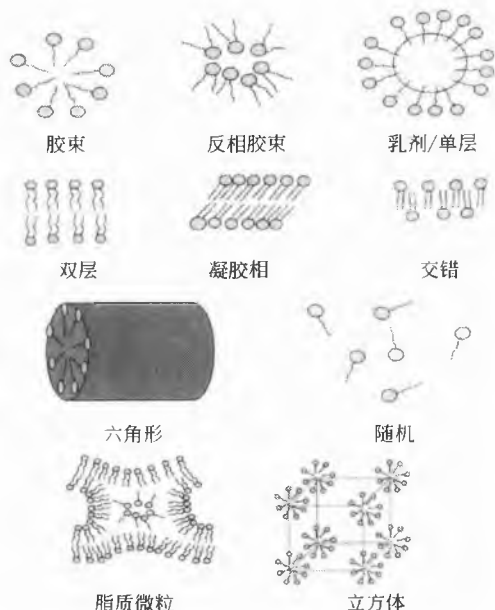


图2 类脂的构象和立体结构。小环表示分子极性基团；单线代表疏水链

相<sup>[12]</sup>完全可以表现出从混悬液到高黏度乳膏的多种状态<sup>[13]</sup>，这取决于最终的体积。片层状组成还包括液晶，胶态和相互交错相。中间相（六边形）是一种带有碳氢化合物内核的圆柱形排列，内核被水合极性基团的界面层包围着。这一定向结构反转后看起来像比较坚硬的六边形Ⅱ结构，在水中以坚硬粒子的形态悬浮，而且不会被添加的水溶液稀释。类脂也可以形成外观清澈、黏稠且易碎的立方体结构<sup>[14]</sup>。随着反相胶团被分布在层状矩阵中，人们也已经观察到类脂多种形态共存的现象，比如油脂颗粒。

有时，仅仅通过改变温度或外相环境（如溶液浓度）诱导相转变，就可以形成不同的聚合状态。类脂的相转化过程可通过改变 pH、温度、阳离子强度和添加两亲性物质进行调控。最近 Caffrey 一直在编辑类脂相转变相关的综合数据库<sup>[15]</sup>。在制备含类脂的制剂时多相转变很常见，这可以解释为什么在制备过程中物料的物理处理特性存在着差异，而在这些制备过程中不同制备工艺中往往需要不同溶剂或施加不同的能量强度。如果考虑到每一份分子占有的相对体积，我们将可以更好地理解类脂分子在排列时所首选的几何学图形。Cullis 等<sup>[16]</sup>和 Gruner 等<sup>[17]</sup>已详细描述了这些类脂分子形状（图3）。

通过物理包裹的方式将药物与各种类脂大分子结合在一起也是可能的。在这种情况下，类脂-药物结合物中的类脂比例是由药物分子的大小、形态和类脂聚合物中包含的空间大小决定的。药物包裹量从低于1%到完全包入各不相同。排除化学相互作用或增溶效应，药物包入的效率与类脂形态和制备方法均有关，二者并重。这一点在制备脂质体时特别突出，温度、压力、溶质浓度、溶剂体积或能量强度等因素都直接影响最终包入类脂中的药物量<sup>[18]</sup>。

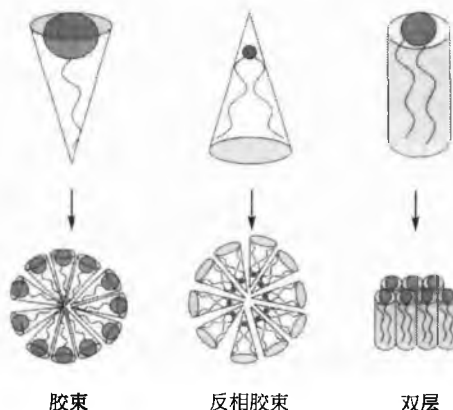


图3 代表胶束、反相胶束和多层结构的几何模型。与邻域相比占据较大横面距离的域的脂质分子将符合相应的形状和包裹行为。胶束和反相胶束近似圆锥形，而片层系统近似圆柱形<sup>[16,17]</sup>

## 类脂产品的生产

类脂制剂产业化问题应作为其总体处方开发中的一部分。虽然从药理学的角度看，类脂制剂产品是安全有效的，但总会存在一些商品化问题阻碍产品的最终上市。这些影响因素包括原材料的供应规格和成本、中间混合相的操作、微粒控制、类脂组分的稳定性、灭菌、与包材的相互作用、药典未收载组分的鉴别以及建立有效的原料和产品的分析方法等。

### 1. 类脂原材料的供应规格和成本

作为上市产品，原材料应该具有很高的纯度且质量始终符合具体的要求，来源易获得。幸运的是，大批量高纯度类脂的供应已经变得越来越充足，特别是随着静注给药脂质体产品获准上市，磷脂的供应量在近年来有很大的提高。

大批量天然类脂可以从植物中获取，许多油脂和脂肪酸可轻易地从这些植物中提取并纯化。混合类脂，如磷脂和胆固醇，通常来自于动物（如蛋类和乳脂）。天然来源类脂产量取决于组成的质量分数和提取效率。植物油中脂肪酸的组成各不相同<sup>[19]</sup>。例如，橄榄油中含有64.6%质量分数的油酸，而棕榈仁油中只含0.7%。同样的，蓖麻油甘油三酯几乎完全由蓖麻油酸酯链组成。全世界有许多油脂和油类成分原料供应商，这样看来，大批量提纯油脂及其衍生物（盐形及醇类）的相对生产成本是非常低的（为50~150\$/kg）。高纯度（>97%）合成磷脂的成本与8~10年前相比也在持续地降低<sup>[18,20,21]</sup>，这主要是由于脂质体上市产品的出现。全世界有多个公司销售磷脂，如 Genzyme（美国/英国）、Avanti Polar Lipids（美国）、Matreya Inc.（美国）、American Lecithin Co.（美国）、Lipoid GmbH（德国）、Vernon Walden（美国）、Lucas Meyer（德国）、

Nichiyu Liposome/Nippon Oil and Fat (日本) 和 Northern Lipids (加拿大) 等公司。现在也有大批量的 PEG 化磷脂、溶血性磷脂和在基因治疗领域应用的阳离子类脂供应。

## 2. 处方中类脂的配比

类脂可以冻干或干燥成固体的粉末, 或溶解, 混悬于适当溶剂变成液态形式获得。干燥的粉末往往是蜡状或黏状物, 不利于称量。亲液性的类脂容易吸湿, 这也给流化床操作带来一定难度。如果类脂的浓度很低, 使用流化床进行干燥是非常有利的<sup>[22]</sup>。

调配液状类脂的操作会更加准确。溶解的方法包括使用极性、非极性溶剂或溶于含表面活性剂溶液中。除了操作的安全性外, 另一个首要考虑的问题是溶解类脂所使用的溶剂与加工设备的相容性, 特别是对泵、传送带、混合器和抽取器上的垫圈和密封圈的损坏。升高温度会使类脂溶解, 或达到类脂的相变温度, 或挥干溶剂, 这会进一步地损坏垫圈和密封圈。在含不挥发溶剂和去污剂的类脂溶液中, 可通过流动离心分离、色谱或透析除去溶媒。

将类脂溶液加入到含药水相溶液时, 需要引入能量使两相混合, 包括普通的旋浆搅拌、更剧烈的乳匀或碾磨、超声或过滤, 以及高压挤出等<sup>[23]</sup>。除非是出现共溶的情况, 否则由不相混溶水相和非极性相组成的混悬液在流动时会产生更多的阻力, 难以挤压滤过, 这种阻力来自于由性质相反的两相组成的界面。此外, 也要考虑滤器对活性分子如蛋白质的吸附作用。类脂的不同形态和浓度导致了制剂可使用性的难易。片层状态的类脂在浓度低于 400mg/mL 时流动性都相当好, 而立方体或六角形的类脂即使浓度很低时, 流动也困难。

## 3. 微粒和粒径控制

对类脂溶液来说, 微粒的控制是很必要的, 取决于给药途径。对非肠道给药制剂而言, 可依据《美国药典》对大容量或小容量注射剂的微粒测定试验的要求进行检查, 同样也可按照欧洲药典中澄明度检查要求和日本药典对外源性不溶物质检查要求进行检查。至于混悬液或不透明的类脂制剂, 可按药典规定的粒径测定试验和对混悬液的要求进行检查 (如光遮蔽法和显微镜检查法)。要减小类脂制剂的粒径, 可以采用多种处理手段, 如浆式搅拌器、乳匀机和高剪切混合器、微射流、胶体磨、超声、压电乳化器和加压滤过及膜挤出等。

## 4. 类脂的稳定性

产品中的类脂, 尤其是不饱和类脂, 往往会通过氧化形成过氧化物<sup>[25]</sup>。比如,  $\text{ROO}^\cdot$ 、 $\text{RO}^\cdot$  和  $\text{OH}^\cdot$  等自由基可使药物降解产生毒性。类脂过氧化物也可以通过自氧化的方式形成, 不饱和度越高, 发生自氧化的概率越大。溶液的 pH<sup>[26]</sup> 或能量引入等因素 (如超声辐射)<sup>[27]</sup> 会加速类脂的水解。因此有必要添加抗氧化剂 (如  $\alpha$ -生育酚、没食子酸丙酯、维生素 C 或二叔丁对甲酚)。

## 5. 灭菌方法

因为类脂的氧化问题, 所以蒸气或加热灭菌并不是理想的灭菌方法。非标准湿热灭菌方法的无菌验证或测定  $F_0$  值是非常必要的。在有些情况下, 例如, 含白凡士林或其他油脂成分眼用软膏剂, 其基质可以用干热方法灭菌 (160~180℃ 维持 1~3h), 然后通过无菌操作, 将基质与药物、辅料混合<sup>[28]</sup>。羊毛脂、凡士林油和液体石蜡之类的软膏可最终用  $^{60}\text{Co}$  进行照射灭菌<sup>[28~30]</sup>。对于低黏度的溶液, 终端的过滤灭菌和无菌灌装通常也是必需的, 但必须通过符合相关管理部门关于最低无菌标准的要求。类脂通过滤膜时需要加压, 因此必须对膜的完整性做充分的检查。高压挤出时, 采用直孔型 (聚碳酸酯类或瓷类) 滤膜可以降低阻力和改善流速<sup>[23]</sup>。

## 6. 包装以及包材表面处理的思考

类脂会被吸附于疏水表面而造成损失。如果分子中同时含有离子基团, 将影响整体。一般来说, 类脂与包装中使用的大多数塑料或玻璃在化学性质上是相容的。残留在类脂相中的溶剂可以与塑性树脂 (如聚苯乙烯或聚碳酸酯) 或橡胶密封圈发生反应。类脂的存在会加速塑料包装中可萃取物的萃取。类脂相也会从硅烷化的或带涂层的垫圈中萃取出硅酮类聚合物。按药典规定的萃取物和杂质检查方法可以检测出这种变化。从制备工艺中或包装材料的表面引入的金属物质是类脂成分降解的催化剂之一。除此之外, 减少顶部空间内的氧气会使可能的降解减小到最低。充入惰性气体可增加类脂的稳定性。

## 类脂制剂的分析

类脂往往呈现四元构象, 因此对含有类脂制剂的分析也必须从化学和物理两个方面进行, 并在分子水平和产品聚集状态进行确证。稳定的检测方法的发展可从上述两个方面考虑。

### 1. 化学测定

对类脂的测定可采用一些标准的分析方法, 如湿法分析、HPLC、薄层色谱和气相色谱等<sup>[31]</sup>。由于类脂制剂可能含有数种成分, 或共同形成一种整体的聚合状态, 所以通常需要进一步对类脂组分进行分离和检测<sup>[32]</sup>。在分析前改变温度, 使用溶剂、洗涤剂、还原剂或氧化剂, 或采用机械破碎等方法, 通常是分离类脂中的单个组分所必需的。如果存在相互干扰, 分析前还需对组分进一步分离或提取。在类脂的溶剂萃取过程中很可能出现原料损失的情况。时常, 产品的测定需要几种技术手段联合使用。已经有广泛使用的湿法分析操作分析手段, 来进行浓度、酸值、羟值、典值和皂化值测定, 端基分析等。表 2 列出用美国药典中的检测方法分析的类脂。

表 2 USP24/NF 中方法分析的类脂

脂质类别	品种
类固醇和类固醇酯	胆固醇, 倍他米松, 骨化二醇, 维生素 D <sub>3</sub> , 氯可托龙特戊酸酯, 醋酸可的松, 去氧胆酸, 去羟米松, 脱氧可的松 (乙酸酯和特戊酸酯), 地塞米松, 醋酸双氟拉松, 二氢速留醇, 地屈孕酮, 维生素 D <sub>2</sub> , 雌二醇, 雌三醇, 结合型雌激素, 雌酮, 哌嗪雌酮硫酸酯, 双醋炔诺醇, 醋酸氟氢可的松, 特戊酸二氟美松, 氟尼缩松, 丙酮化氟新龙, 氟轻松, 氟米龙, 氟甲睾酮, 氟羟可舒松, 哈西奈德, 氢化可的松, 左炔诺醇, 甲羟孕酮, 甲泼尼松, 美雌醇, 甲基强的松, 甲睾酮, 米勃酮, 莫米松糠酸酯, 诺龙 (癸酸酯和苯庚酸酯), 异炔诺酮, 炔诺孕酮, 羟甲烯龙, 泼尼松, 黄体酮, 利美索龙, 螺内酯, 司坦唑醇, 睾内酯, 睾酮, 醋酸去甲雄三烯醇酮, 曲安西龙
脂肪酸、脂肪酸盐和脂肪酸酯	单硬脂酸铅, 硬脂酸钙, 油酸乙酯, 异丙基肉豆蔻酸酯, 棕榈酸异丙酯, 硬脂酸镁, 油酸, 聚氧乙烯单硬脂酸酯, 丙酸, 硬脂酸钠, 硬脂酸, 纯化硬脂酸, 硬脂酸锌
脂肪醇	苯甲醇, 丁醇, 十八醇、十六醇混合物, 鲸蜡醇, 鲸蜡脂, 蜂蜡, 羊毛脂醇, 辛基十二烷醇, 油醇, 硬脂醇
油和油脂	杏仁油, 蓖麻油, 鱼肝油, 玉米油, 棉籽油, 二乙酰化单酸甘油酯, 乙碘油注射液, 甘油二十二烷酸酯, 单硬脂酸甘油酯, 氢化蓖麻油, 氢化植物油, 轻质液体石蜡, 矿物油, 单和二葡基甘油二酯, 单和二乙酰单酸甘油酯, 油性维生素, 橄榄油, 橙花油, 花生油, 薄荷油, 潘氟隆, 桃仁油, 聚氧乙烯 <sup>[35]</sup> 蓖麻油, 聚氧乙烯氢化蓖麻油 <sup>[40]</sup> , 蔷薇油, 红花油, 芝麻油, 大豆油, 角鲨烷, 生育酚赋形剂, 维生素 E, 维生素 E PEG 琥珀酸酯
磷脂	卵磷脂
蜡类	巴西棕榈蜡, 乳化蜡, 硬脂, 亲水性软膏, 亲水性凡士林, 微晶蜡, 石蜡, 凡士林油, 玫瑰水软膏, 合成石蜡, 白蜡, 黄软膏, 蜂蜡

## 2. HPLC 法

采用正相柱的 HPLC 法来分析非极性类脂是最好的。然而, 对含有极性药物的混合相或药物在水相中的情况则需要进行一些取舍。已经有研究报道, 采用 C<sub>8</sub> 柱和四溶剂流动相较好地分离了极性和中性类脂<sup>[33]</sup>。虽然中性脂类 (如甘油三酯) 从 C<sub>18</sub> 柱的洗脱较慢, 但分离度较好。为了获得较高的分离度和使相似的成分达到分离, 调整流动相比例往往是必须的<sup>[34]</sup>。增加柱温往往是有利的, 当柱温高于类脂的相变温度时, 可以最大化地防止柱堵塞。以饱和链为主的类脂即使在较低波长 (190nm) 也只有很低的紫外 (UV) 吸收, 因此需考虑其他类型的检测器。

## 3. 薄层色谱

一维和二维的硅胶薄层色谱法仍然是类脂分析的基础<sup>[31, 35]</sup>。这种方法的灵敏度很低, 仅为 2μg/点。可通过多种方法使类脂显色, 包括碘蒸气或采用重铬酸、二价铜试剂、磷喷雾或 α-萘酚。其他常用的试剂包括染料和染料, 比如荧光胺、玫瑰红 6G、溴百里酚蓝、钼蓝、磷钼酸和硝酸银等, 这些染料都可以渗透到二氧化硅中。类脂的纯度测定和定量采用凝胶或薄层扫描的方法。

## 4. 气相色谱

毛细管柱和填充柱在分析复杂的类脂混合物时非常有用。毛细管柱的最佳长度取决于待分析物的复杂性, 但最常

用的是 30m 的柱子。填充柱中许多类型的固定相都可用于类脂的分离, 这些固定相包括硅酮及其烷基化或氰基化的衍生物、聚酯、聚乙二醇和碳硼烷等。另外一种常用的方法是, 在进行色谱分析前, 将脂肪酸侧链在 BF<sub>3</sub>/甲醇溶剂中衍生为其对应的甲酯, 从而达到重复性更好的分离结果。

## 5. 物理测定

类脂的聚合状态可以借助于许多分析设备进行辨别, 这也提供了类脂的物理性质方面的信息。这类技术也用于研究类脂载体与药物的相互作用。

### 5.1 粒径大小

类脂粒径的分析可采用市场上最常见的激光粒子计数器。混悬液中的粒子测定也可采用电子显微镜检查的方法, 其不但可以定量而且还可定性。类脂混悬液的粒子可通过负染、冷冻破裂、临界干燥和扫描等多种技术检测。

### 5.2 核磁共振

核磁共振 (NMR) 技术在类脂构相的确证方面是非常有用的<sup>[36]</sup>。特别是氕、氘、碳-13、氟-19 和磷-31 的 NMR 在分析类脂的动力学和动态性质, 类脂的扩散、排序、端基水化、不对称性, 类脂组分的定量, 端基构象和动力学等方面都有应用。Cullis 等<sup>[16]</sup> 和 Gruner 等<sup>[17]</sup> 的研究表明将 <sup>31</sup>P-NMR 作为一种研究工具, 来研究类脂相的性质和不对称性以及确定类脂的构相 (如双分子层、六角形) 和各

向同性等性质时的具有非常重要的作用。

### 5.3 电子自旋共振

电子自旋共振 (ESR) 用于提供类脂分子局部环境的信息<sup>[37]</sup>。在正常状态下, 这些分子本身并不存在 ESR 光谱。然而氧化亚氮或氮氧自由基探测器等指针可以直接与类脂分子连在一起, 或与脂链相连, 然后融入类脂中, 从而产生必需的信号。ESR 光谱分析数据对确认组分的分子性质很有价值, 如相转变和分离、次序参数 (各向异性现象)、极性、旁向扩散、分离和簇集、表面和跨膜电位、渗透性和内体积、表面原性 (抗原)、pH 梯度、类脂不对称性、逆转和融化等。

### 5.4 差示扫描量热法

差异扫描量热法是一项广为人知的用于研究类脂热行为的技术, 同时也可用于评价类脂的纯度和稳定性、聚集结构的摄动、相变温度、脂类混合行为和其他分子及离子对其结构的影响等<sup>[38]</sup>。

### 5.5 X 射线和中子衍射

类脂溶液衍射图是证明有机膜层中特异性重复构象存在和类脂分子间距的有力证据<sup>[12,39~41]</sup>。

### 5.6 光谱分析

对类脂溶液和分散相的光学特征进行测定可以提供有关浓度、聚集和稳定性、相转变、相对密度和重复结构等方面的信息<sup>[42~44]</sup>。根据产品的具体要求, 测定折光率、散射光强 (极化和去极化) 和双折射是相对简单的实验方法。同样, 荧光技术也可以容易地给出在微粒间类脂的运动和转变方面的信息<sup>[45,46]</sup>。

## 上市和在研的类脂剂型

在制剂中采用类脂的主要目的包括: ①改善药物的溶解度或物理加工性, 以便于给药或增加稳定性; ②增加或减小剂型中药物的吸收; ③使药物具有靶向性, 从而最大限度发挥药效的同时使副作用最小化; ④控制或减缓药物从剂型中释放出来。目前, 虽然类脂在非胃肠道、肺和鼻腔给药产品方面的应用在不断增多, 但应用最多的还是在口服或局部给药的产品。

药物从类脂给药系统释放的机制取决于五级结构的性质: 一级结构, 即化学或分子间相互作用; 二级结构, 即聚集结构, 如反相胶束; 三级结构, 即三维投影, 如三维反相胶束或六边形相的细管; 四级结构是三维结构的缔和、团聚或相互作用, 如六边形小管的侧向堆积; 五级结构是溶液中 (浓度效应) 分子填充产生脂类、膏、固体物等。哺乳动物机体本身具有快速分解大部分脂类原材料的降解途径。药物向生物体系统的释放受到结构特点的影响至少与简单的自然降解机制的影响是同样重要的。

## 1. 亲脂衍生物与前体药物

为改变药物组分与细胞和细胞屏障之间常见的相互作用, 制成亲脂衍生物和前体药物不失为一个精明的策略。如果药物组分在接合反应后仍然能保持其活性, 或者保持一种可被机体所降解的可逆形式, 这类修饰类型正是一直所需要的。多种将类脂与药物进行化学偶联的方法可被用来制备所需的修饰产物<sup>[20]</sup>。简单地说, 产生不可逆反应的方法有: 通过戊二醛、酯酐或者卤化物将药物与氨基酸残基结合起来; 或通过碳二亚胺活化脂肪酰基链的琥珀酰亚胺衍生物将药物与氨基酸残基结合起来。不可逆的结合反应也通过药物中碳二亚胺活化的羧基部分与含胺的类脂反应而完成。与药物酚基的永久性结合可通过与带有有效胺的类脂重氮化而得。这一方法已经在制备含酪氨酸残基的亲脂性肽类衍生物中得以成功应用。类脂的结合反应也可利用药物中有效的巯基基团, 特别是在抗体的修饰方面。另外, 使用 Schiff 碱反应也可完成生物可逆性结合, 即将有醛基的类脂与药物中的胺偶联。高碘酸盐可使更多的糖脂羧基转化成相应的醛基。Schiff 碱反应的一个扩展反应是 Mannich 碱缩合反应, 这一反应可以在醛和胺之间的反应中引入亲核反应物, 比如烯醇式的阴离子或酰胺。在这些反应中, 胺通常为亲脂性的伯或仲胺。与亲脂性 *N*-Mannich 碱的衍生物和稳定的  $\alpha$ -环烷基相关的制备和生物活性已有大量的文献报道。已有多篇<sup>[47~50]</sup>有关亲脂性衍生化药物通过多种给药途径而发挥疗效的详细报道。

## 2. 渗透促进剂

许多非常好的综述谈到了提高药物透过亲脂性生物屏障的需求, 其中有特别的文献探讨了剂型亲脂性的重要性<sup>[51~55]</sup>。表 3 是一些能使渗透性增强的类脂。给药的部位包括口腔、鼻腔、眼部、皮肤、直肠和肺部等。

表 3 脂质渗透促进剂

类别	化合物
离子型 脂质	硫酸月桂基酯, 十二烷基-2-吡咯酮, <i>N</i> -十二烷基氮杂环庚烷-2-酮 (氮酮), 月桂烷氮杂环庚烷酮, <i>N</i> -十二烷基- <i>N</i> , <i>N</i> -二甲基甜菜碱, 十二烷基苯磺酸钙, 磺琥珀辛酯钠, 十二烷基- <i>N</i> , <i>N</i> -二氨基, 乙酸或丙酸酯, 溴化十六烷基三甲铵
类固醇和 类固醇酯	胆酸盐, 脱氧胆酸盐, 牛磺胆酸盐, 甘氨酸胆酸盐, 牛磺脱氧胆酸盐, 牛磺二氢胆酸霉素钠, 胆固醇酯
脂肪酸/脂 肪酸酯/脂 肪醇	油酸, 十二烷酸, 癸酸, 庚酸, 硬脂酸, 棕榈油酸, 棕榈烯酸, 硬脂酸, 蔗糖月桂酸酯, 异丙基肉豆蔻酸酯
磷脂	卵磷脂, 溶血磷脂胆碱, 单油酰脑磷脂
油脂	甘油单油酸酯, 可可脂, 豆蔻油, (三)-辛酸甘油酯, 液状石蜡, 萜类和萜类化合物

## L

## 3. 分散载体

类脂在口服液体剂中作为载体有着相当广泛的应用。主要用作表面活性剂改善药物混悬性或溶解度（脂肪二醇和脂肪酸），用作矫味剂（天然或合成油）、增稠剂（氢化油）等。在口服混悬液方面的应用已有很深的研究<sup>[56]</sup>。基于类脂载体的溶液主要用于软胶囊，其主要的种类包括一些与明胶相容较好的油类，并且这些油类还作为制作明胶薄层的润滑剂和软胶囊中填充物。在软胶囊填充物中，类脂浓度越高，乙醇的含量也越高<sup>[57]</sup>。

类脂还可以用于制备注射液，特别是静脉注射制剂。脂肪酸、脂肪二醇和脂肪醇可用于增加某些不溶药物的溶解度，并可作为防腐剂或像在鱼脂酸钠注射剂中一样作为活性物质（Glenwood），鱼脂酸钠注射剂是从鱼肝油中提取的脂肪酸盐混合物。另外一个例子是，苯甲醇在水不溶性药物注射液〔如依托泊苷（VePesid）〕中用作防腐剂，同时又是 Zilactin 凝胶（Zila）中的主要活性成分。聚氧乙烯化的脂肪酸衍生物可以溶解植物甲萘醌（一种用于皮下或肌肉注射的脂溶性维生素，AquaMEPHYTON）。在两性霉素 B 洗剂中，去氧胆酸被用作注射用两性霉素 B 的增溶剂。聚氧乙烯化或 PEG 化蓖麻油也可溶解注射用药物，如环孢霉素 A、紫杉醇、鬼臼噻吩苷（紫杉酚和替尼泊苷）和咪康唑（硝酸咪康唑）等。澄明的胶态分散体中也广泛采用磷脂、胆固醇酯和生育酚酯<sup>[13,18]</sup>。

## 4. 固晶和液晶混悬液、乳膏剂和凝胶剂

混悬液和乳膏剂通常用作水难溶性药物载体，如典型的有皮质类固醇的眼用和耳用制剂。在 Glaxo Wellcome 公司的 Cortisporin 或 Pediotic 混悬液制剂中，使用鲸蜡醇、单硬脂酸甘油酯、石蜡和丙二醇等成分可使含药物颗粒的混悬液的均匀性更好。

对于难溶性药物混悬注射液来说，粒度必须足够小。在这些情况下，类脂既可作为润湿剂，也可作为混悬液的赋形剂<sup>[58]</sup>。卵磷脂（磷酸酰胆碱）不论在水溶液中还是非水溶液中，都可以起到润湿和增加药物粒子悬浮稳定性的作用。这种普通的组分在肌注长效的青霉素混悬剂（如 Wyeth-Ayerst 的苄基青霉素 L-A），和支气管扩张用的吸入粉雾剂 Boehringer Ingelheim 的 Atrovent 以及耳用混悬剂 Bayer 的 Cipro HC 都有应用。中性类脂混合物中的天然来源的和合成的卵磷脂，也可以用作肺部表面活性剂产品的活性成分，如 Glaxo Wellcome 的 Exosurf、Ross 的 Survan-ta 以及 Forest Labs 的 Infasurf。

类脂在局部用乳膏剂、软膏剂、胶体剂和洗剂中作为赋形剂应用广泛，而且常常作为许多这类制剂的基质材料。这些成分主要以乳状液的形式存在，并且含有脂肪酸、脂肪盐、脂肪醇、石油来源的油和天然油、石蜡、脂肪二醇、羊毛脂及其他疏水类型的表面活性物质。这类乳状剂在皮肤局部用制剂中较为常见，由于产品品种过多，这里不再赘述。这些组分中的某些成分还可以用于栓剂的赋形剂，

如 Abbott Laboratories 的 Nembutal（戊巴比妥钠）的半合成甘油酯、Novartis 的 Dulcolax（双醋苯啉）中的氢化植物油，以及 Pharmacia-Upjohn 的阴道栓 Prostin E<sub>2</sub> 中和 Wyeth Ayerst 的 Crinone Gel 中的脂肪酸或脂肪油的甘油酯。液状石蜡也常常应用于透皮制剂中，如 Boehringer Ingelheim 的 Catapres-TTS 和 Novartis 的 Estraderm（雌二醇）。此外，许多眼用或局部用软膏中都使用白凡士林或液体石蜡作为基质，如 Alcon Labs 的 Tobradex 和 Hoechst Marion Roussel 的 Nitro-Bid。短链的甘油三酯，例如，乙酸甘油在 Pharmacia-Upjohn 的 Pripidil 凝胶（一种颈部给药的前列腺素类药物）中有所应用。

水包油乳剂也一直用于静脉注射。市售脂肪乳有 Schein 公司的 Dizac 和 Zeneca 公司的 Diprivan。许多市售或在研的脂肪乳都以植物油（最常用的是大豆油、红花油和棉籽油）为油相，以磷脂和单酸甘油酯为稳定剂，磷脂和单酸甘油酯的 HLB 值很好地达到了油相形成乳剂所要求的 HLB 值（HLB≈6~7）。其他以磷脂为基础、具有较高 HLB 值的表面活性剂的使用进一步拓展了非毒性的静注脂肪乳的应用<sup>[24,59,60]</sup>。已发表许多非常好的有关注射用乳剂应用的综述和文章<sup>[61~65]</sup>。药物油/磷脂载药乳剂来源于早期发展上市的静注营养乳剂产品，如无菌的且无毒性的 KabiVitrum 公司的 Intralipid 和 Abbott Laboratories 的 Aminosyn II。对这些乳剂以及其类似乳剂组分的分布性质研究已有报道<sup>[63,64,66~68]</sup>。仅做粗略的统计就可以看出，注射用载药乳剂涉及的药物非常广泛，如两性霉素 B、前列腺素 E<sub>1</sub>、海罗芬、孕烷醇酮、紫杉醇、紫苏酮、本可麦定、F-溴辛烷、氟比洛芬、拉沙洛西、木质素、鬼臼毒素、他克莫司、阿霉素、表柔比星、四烯甲萘醌、马来酸氯苯那敏、甲基萘丙醇、环孢霉素 A、普萘洛尔、睾酮、苯佐卡因、对苯基偶氮胺、棕榈酰力索新、匹鲁卡品、地西洋和多种用作疫苗的肽类和蛋白质等。

## 5. 脂质体制剂

对脂质体的详细研究可以追溯到 20 世纪 60 年代。脂质体的组成和生产工艺在许多好的全面的综述性文献有所谈及<sup>[18,23,24,69~73]</sup>，其中包括本书中的“药用脂质体制剂”。最早上市的脂质体制剂为兽药（Novasome）或是用于增加水合作用的非处方化妆品乳膏（L'Oreal）。最近，两性霉素 B、阿霉素和柔红霉素的注射用脂质体制剂已批准上市，如 Elan 公司的 ABELCET、Nexstar/Fujisawa 公司的 AmBisome 及 DaunoXome、Sequus/Alza 公司的 Amphotec 及 Doxil，还有其他光敏感脂质体制剂也指日可待<sup>[74]</sup>。虽然大多数的脂质体制剂都由磷脂制备而得，但其他非磷脂成分也可以单独或混合使用而形成双分子层。Amphotec 就是这样一个例子，其使用胆固醇硫酸钠作为主要的脂质。其他制备脂质体的材料不仅仅限于脂肪酸类成分，还包括离子化脂肪酸、脂肪酰胺酸、长链的脂肪醇以及表面活性剂，如离子化的溶血磷脂或其复合物、非离子或离子型表面活性剂、两亲化合物、烷基麦芽糖酐、 $\alpha$ -生育酚酯、胆固醇

酯、聚氧乙烯烷基醚、脱水山梨糖醇烷基酯、聚合磷脂复合物等<sup>[20]</sup>。

## 6. 低密度脂蛋白载体

脂蛋白在转运血液中的胆固醇和其他的类脂(如甘油三酯)时可以自然形成乳剂粒子载体。由于低密度脂蛋白(LDL)粒子的清除是受体介导的,所以可被用作靶向药物载体,特别是使细胞毒性药物靶向到肿瘤细胞,抗病毒药物靶向到肝实质细胞,以及免疫调节剂、抗病毒药和抗寄生虫药物靶向到 Kupffer 细胞和内皮细胞,LDL 也可作为基因载体<sup>[75~78]</sup>。

## 7. 固体剂型

类脂在固体制剂中主要用于口服片剂。硬脂酸镁和硬脂酸钙等脂肪酸盐、多种蜡和甘油酯最常被用作压片时的调节剂和黏合剂,使药物给药后更好地控释或缓慢崩解。有关讨论这些材料在制备口服片剂或胶囊剂中的应用文献有很多<sup>[79~81]</sup>。类脂在固体植入制剂中的应用也有报道。例如,胆固醇和高熔点脂肪酸、脂肪酐类和甘油酯等材料已经用作压入型植入剂,用于延长药物的体内时间<sup>[82,83]</sup>。类脂也非常适用于栓剂和阴道栓中使用。

## 8. 类脂制剂的安全性

脂类产品安全性从以下几个方面得以反映:①给药剂化合物的纯度;②基本化学组分的生物毒性;③类脂结构的影响。非必需类脂必须进行毒性试验。

### 8.1 污染物和纯度

必须采用灵敏的分析手段将制剂中类脂和污染物区别开来。副产物可能来源于生产类脂的合成工艺或天然的提取过程。比如,合成二酰基类脂过程中的常见杂质是单酰基,单酰基产物通常对生物系统的毒性更大。内毒素和热原要么在脂类制剂中可被检出<sup>[23,84]</sup>,也可由于类脂对分析试剂的屏蔽而不易检出<sup>[85]</sup>。

### 8.2 免疫反应

对哺乳动物给予类脂时需考虑免疫反应。众所周知,油可用作佐剂,不同的油可产生不同程度的反应<sup>[86]</sup>。仅仅因为油本身的纯度和化学性质的作用会造成不同严重程度的一些生物学的反应,如白细胞吸附、油的包裹、水肿等。重要的是,大部分类脂,包括一般的内源化合物,都具有不同程度的抗原能力<sup>[87]</sup>。在整体的临床设计中应当对这些可能的反应进行检测。

### 8.3 构象方面的考虑

类脂制剂中类脂的构象或粒径大小不同产生的生物学效应也不同。比如抗体识别薄层状类脂和六边相类脂的能力已被很好认识,这种能力可能是形成某些类型的自身免疫功能障碍的诱因<sup>[88]</sup>。生物学因素,如网状内皮细胞对粒子

的识别作用,使人们必须要更好地控制制剂的粒径和稳定性。

## 参考文献

1. Harkins, W. D.; Mattoon, R. W.; Corrin, M. L. Structure of Soap Micelles Indicated by X-rays and the Theory of Molecular Orientation. I. Aqueous Solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 1946, 68, 220—228.
2. Jones, M. N., Chapman, D., Jones, M., III Eds.; *Micelles, Monolayers and Biomembranes*; John Wiley & Sons: New York, 1994; 264.
3. Mittal, K. L., Shah, D. O. Eds., *Surfactants in Solution*; Plenum Publishing Corp.: New York, 1992; 720.
4. Florence, A. T. *Drug Solubilization in Surfactant Systems. Techniques of Solubilization of Drugs*; Yalkowsky, S. H., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1981; 15—89.
5. Mittal, K. L. *Micellization, Solubilization and Microemulsions*; Plenum Publishing Corp.: New York, 1977; vol. 1 and 2, 945.
6. Gelbart, W. M., Ben-Shaul, A., Roux, D., Eds. *Micelles, Membranes, Microemulsions, and Monolayers (Partially Ordered Systems)*; Springer Verlag: New York, 1994; 608.
7. Shah, D. O., Ed. *Micelles, Microemulsions and Monolayers*; Science and Technology; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 610.
8. Sjoblom, J., Ed. *Emulsions and Emulsion Stability*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 474.
9. Shinoda, K.; Friberg, S. *Emulsions and Solubilization*; John Wiley & Sons: New York, 1986; 174.
10. Tyle, P. *Liquid Crystals and Their Applications in Drug Delivery. In Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems*; Rosoff, M., Ed.; VCH Publishers: New York, 1989; 125—162.
11. Lo, I.; Florence, A. T.; Treguier, J. P.; Seiller, M.; Puisieux, F. The Influence of Surfactant HLB and the Nature of the Oil Phase on the Phase Diagrams of Nonionic Surfactant-Oil-Water Systems. *J. Colloid Interface Sci.* 1977, 59, 319—327.
12. Gruner, S. M. *Material Properties of Liposomal Bilayers. Liposomes: From Biophysics to Therapeutics*; Ostro, M. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987; 1—38.
13. Weiner, A. L. *Lamellar Systems for Drug Solubilization. Liposomes: From Biophysics to Therapeutics*; Ostro, M. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987; 339—369.
14. Brown, G. H.; Wolken, J. J. *Liquid Crystals and Bio-*

- logical Structures; Brown, G. H., Wolken, J. J., Eds.; Ch. 2 and 3 Academic Press; New York, 1979.
15. Caffrey, M. Lipidat a Database of Thermodynamic Data and Associated Information on Lipid Mesomorphic and Polymorphic Transitions; CRC Press Inc.: Boca Raton, FL, 1993; 305.
  16. Cullis, P. R.; de Kruijff, B.; Hope, M. J.; Verkleij, A. J.; Nayar, R.; Farren, S. B.; Tilcock, C.; Madden, T. D.; Bally, M. B. Structural Properties of Lipids and their Functional Roles in Biological Membranes. Membrane Fluidity in Biology. Concepts of Membrane Structure; Academic Press; New York, 1983; 1, 39—81.
  17. Gruner, S. M.; Cullis, P. R.; Hope, M. J.; Tilcock, C. P. S. Lipid Polymorphism; The Molecular basis of Nonbilayer Phases. Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 1985, 14, 211—238.
  18. Weiner, A. L.; Cannon, J. B.; Tyle, P. Commercial Approaches to the Delivery of Macromolecular Drugs with Liposomes. Controlled Release of Drugs; Polymers and Aggregate Systems; Rosoff, M., Ed.; VCH Publishers; New York, 1989; 217—253.
  19. Bailey, A. E. Composition and Characteristics of the Individual Fats and Oils. Industrial Oils and Fat Products; Interscience Publishers, Inc.; New York, 1951; 967.
  20. Weiner, A. L. Lipids in Pharmaceutical Dosage Forms. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, Boylan, Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1993; Vol. 8, 417—476.
  21. Weiner, A. L. Developing Lipid-Based Vehicles for Peptide and Protein Drugs. Part I: Selection and Analysis Issues. Biopharm. 1990, 3 (3), 27—32.
  22. Chen, C-M.; Alli, D. Use of Fluidized Bed in Liposome Manufacturing. J. Pharm. Sci. 1987, 76, 419.
  23. Martin, F. J. Pharmaceutical Manufacturing of Liposomes. Specialized Drug Delivery Systems. Manufacturing and Production Technology; Tyle, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1990; 267—316.
  24. Weiner, A. L. Liposomes for Protein Delivery. Immunomethods 1994, 4, 201—209.
  25. Bressler, R. Fatty-Acid Oxidation. Lipid Metabolism; Florkin, M., Stotz, E. H., Eds.; Comprehensive Biochemistry Ch. 8 Elsevier Publishing Co. Amsterdam, 1970; 18.
  26. Ho, R. J. Y.; Schmetz, M.; Deamer, D. W. Non-enzymatic Hydrolysis of Phosphatidylcholine Prepared as Liposomes and Mixed Micelles. Lipids 1987, 22, 156—158.
  27. Jana, A. K.; Agarwal, S.; Chatterjee, S. N. Ultrasonic Radiation Induced Lipid Peroxidation in Liposomal Membrane. Radiat. Environ. Biophys. 1986, 25, 309—314.
  28. Turco, S. J.; King, R. E. Sterile Dosage Forms. Their Preparation and Clinical Application; Lea & Febiger; Philadelphia, 1974; 326—328.
  29. Tsuji, K.; Goetz, J. F.; Vanmeter, W. Effect of 60 Co-Irradiation on Penicillin G Procaine in Veterinary Mastitis Products. J. Pharm. Sci. 1979, 68, 1075—1080.
  30. Nash, R. A. Radiosterilized Tetracycline Ophthalmic Ointment. Bull. Par. Drug Assoc. 1974, 28, 181—187.
  31. Kates, M. Techniques in Lipidology. Isolation, Analysis and Identification of Lipids, 2nd Revised Ed.; Elsevier; Amsterdam, 1986; 464.
  32. Kuksis, A.; Myher, J. J. General Strategies For Practical Chromatographic Analysis of Lipids. Journal of Chromatography Library Monographs; Kuksis, A., Ed.; (Chromatography of Lipids in Biomedical Research and Clinical Diagnosis) Elsevier; Amsterdam, 1987; Vol. 37, 1—47.
  33. McCracken, M. S.; Holt, N. J. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Lipids in Vesicles. J. Chromatog. 1985, 348, 221—227.
  34. Jungalwala, F. B. High-Performance Liquid Chromatography of Phosphatidylcholine and Sphingomyelin with Detection in the Region of 200 nm. Biochem. J. 1976, 155, 55—60.
  35. Fried, B.; Sherma, J. Thin Layer Chromatography; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1986; 394.
  36. Browning, J. L. NMR Studies of the Structural and Motional Properties of Phospholipids in Membranes. Liposomes; From Physical Structure to Therapeutic Applications; Knight, C. G., Ed.; Elsevier/North-Holland Biomedical Press; Amsterdam, 1981; 189—242.
  37. Marsh, D.; Watts, A. ESR Spin Label Studies of Liposomes. Liposomes; From Physical Structure to Therapeutic Applications; Knight, C. G., Ed.; Elsevier/North-Holland Biomedical Press; Amsterdam, 1981; 139—188.
  38. Mabrey-Gaud, S. Differential Scanning Calorimetry of Liposomes. Liposomes; From Physical Structure to Therapeutic Applications; Knight, C. G., Ed.; Elsevier/North-Holland Biomedical Press; Amsterdam, 1981; 106—138.
  39. Luzzati, V.; Tardieu, A. Lipid Phases-Structure and Structural Transitions. Ann. Rev. Phys. Chem. 1974, 25, 79—94.
  40. Mitsui, T. X-Ray Diffraction Studies of Membranes. Adv. Biophys. 1978, 10, 97—135.
  41. Franks, N. P.; Lieb, W. R. X-ray and Neutron Diffraction Studies of Lipid Bilayers. Liposomes; From Physical Structure to Therapeutic Applications; Knight, C.



- G., Ed.; Elsevier/North-Holland Biomedical Press: Amsterdam, 1981; 243—272.
42. Mishima, K.; Satoh, K.; Ogiwara, T. Optical Birefringence of Phosphatidylcholine Liposomes in Gel Phases. *Biochim. Biophys. Acta* 1977, 898, 231—238.
  43. Yi, P. N.; MacDonald, R. C. Temperature Dependence of Optical Properties of Aqueous Dispersions of Phosphatidylcholine. *Chem. Phys. Lipids* 1973, 11, 114—134.
  44. Powers, L.; Pershan, P. S. Monodomain Samples of Dipalmitoyl Phosphatidylcholine with Varying Concentrations of Water and Other Ingredients. *Biophys. J.* 1977, 20, 137—152.
  45. Tanaka, Y.; Schroit, A. J. Calcium/Phosphate-Induced Immobilization of Fluorescent Phosphatidylserine in Synthetic Bilayer Membranes; Inhibition of Lipid Transfer Between Vesicles. *Biochemistry* 1986, 25, 2141—2148.
  46. Nichols, J. W.; Pagano, R. E. Resonance Energy Transfer Assay of Protein-Mediated Lipid Transfer Between Vesicles. *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 5368—5371.
  47. Bundgaard, H. Prodrugs as a Means to Improve the Delivery of Peptide Drugs. *Adv. Drug Del. Rev.* 1992, 8 (1), 1—38.
  48. Lee, V. H. L.; Li, V. H. K. Prodrugs for Improved Ocular Drug Delivery. *Adv. Drug Del. Rev.* 1989, 3 (1), 1—38.
  49. Sloan, K. B., Ed. Prodrugs. Topical and Ocular Drug Delivery; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 313.
  50. Roche, E. B. Bioreversible Carriers in Drug Design; Theory and Application; Pergamon Press: New York, 1987; 292.
  51. Lee, V. H. L.; Yamamoto, A.; Kompella, U. B. Mucosal Penetration Enhancers for Facilitation of Peptide and Protein Drug Absorption. *CRC Critical Reviews in Therapeut. Drug Carriers* 1991, 8 (2), 91—192.
  52. Lee, V. H. L. Enzymatic Barriers to Peptide and Protein Absorption and the Use of Penetration Enhancers to Modify Absorption. *Delivery Systems for Peptide Drugs*; Davis, S. S., Illum, L., Tomlinson, E., Eds.; Plenum: New York, 1986; 87—104.
  53. Wearley, L. L. Recent Progress in Protein and Peptide Delivery by Noninvasive Routes. *CRC Critical Reviews in Therapeut. Drug Carriers* 1991, 8 (4), 331—394.
  54. Bodde, H. E.; Verhoeven, J.; van Driel, L. M. J. The Skin Compliance of Transdermal Drug Delivery Systems. *CRC Critical Reviews in Therapeut. Drug Carriers* 1989, 6 (1), 87—115.
  55. Knepp, V. M.; Hadgraft, J.; Guy, R. H. Transdermal Drug Delivery: Problems and Possibilities. *CRC Critical Reviews in Therapeut. Drug Carriers* 1987, 4, 13.
  56. Carstensen, J. T. Theory of Pharmaceutical Systems; (General Principles) and 2 (Heterogeneous Systems) Academic Press: New York, 1972 and 1973; Vol. 1.
  57. Weiner, A. L. Integrity Protected Gelatin. US Patent 5 376 381, 1994.
  58. Wang, Y.-C. J.; Kowal, R. R. Review of Excipients and pH's for Parenteral Products Used in the United States. *J. Parent. Drug Assoc.* 1980, 34, 452—462.
  59. Weiner, A. L. Emulsions. US Patent 5 626 873, 1997.
  60. Weiner, A. L. Emulsions. US Patent 5 171 737, 1992.
  61. Collins-Gold, L. C.; Lyons, R. T.; Bartholow, L. C. Parenteral Emulsions for Drug Delivery. *Adv. Drug Del. Rev.* 1990, 5 (3), 189—208.
  62. Benita, S., Ed. Submicron Emulsions in Drug Targeting and Delivery (Drug Targeting and Delivery); Harwood Academic Publishers/Gordon and Breach Publishing Group; Newark, NJ, 1999; Vol. 9, 352.
  63. Davis, S. S.; Washington, P. W.; Illum, L.; Liversidge, G.; Sternson, L.; Kirsh, R. Lipid Emulsions as Drug Delivery Systems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1987, 507, 75—88.
  64. Davis, S. S.; Hadgraft, J.; Palin, K. Medical and Pharmaceutical Applications of Emulsions. In *Encyclopedia of Emulsion Technology*; Beecher, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc. New York, 1985; Vol. 2, 159—238.
  65. Singh, M.; Ravin, L. Parenteral Emulsions as Drug Carrier Systems. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1986, 40, 34—41.
  66. Hansrani, P. K.; Davis, S. S.; Groves, M. J. The Preparation and Properties of Sterile Intravenous Emulsions. *J. Parent. Sci. and Technol.* 1983, 37, 145—150.
  67. Davis, S. S.; Hansrani, P. K. The Evaluation of Parenterally Administered Emulsion Formulations. *Radionuclide Imaging in Drug Research*; Wilson, C. G., Hardy, J. G., Frier, M., Davis, S. S., Eds.; Croom Helm, 1982; 217—241.
  68. Davis, S. S.; Illum, L. Colloidal Delivery System. Site Specific Drug Delivery; Tomlinson, E., Davis, S. S., Eds.; John Wiley & Sons; Chichester, 1986; 93—110.
  69. Shek, P. N., Ed. Liposomes in Biomedical Applications (Drug Targeting and Delivery); Harwood Academic Publishers/Gordon and Breach Publishing Group; Newark, NJ, 1995; 6, 304.
  70. Ostro, M. J., Ed. Liposomes: From Biophysics to Therapeutics; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987; 393.
  71. Janoff, A. S., Ed. Liposomes: Rational Design; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 451.
  72. Lasic, D. D.; Papahadjopoulos, D., Eds. Medical Applications of Liposomes; Elsevier Science Ltd.: Amsterdam,

L

- dam, 1998; 779.
73. Barenholtz, Y.; Crommelin, D. J. A. Liposomes as Pharmaceutical Dosage Forms. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J., Boylan, J., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1993; 9, 1—39.
74. Husain, D.; Miller, J. W.; Michaud, N.; Connolly, E.; Flotte, T. J.; Gragoudas, E. S. Intravenous Infusion of Liposomal BPD for Photodynamic Therapy of Experimental Choroidal Neovascularization. *Arch. Ophthalmol.* 1996, 114, 978—985.
75. de Smidt, P. C.; van Berkel, Th. J. C. LDL-mediated Drug Targeting. *CRC Critical Reviews in Therapeut. Drug Carriers* 1990, 7 (2), 99—120.
76. Bijsterbosch, M. K.; van Berkel, Th. J. C. Native and Modified Lipoproteins as Drug Delivery Systems. *Adv. Drug Del. Res.* 1990, 5 (3), 231—252.
77. Hara, T.; Tan, Y.; Huang, L. In Vivo Gene Delivery to the Liver Using Reconstituted Chylomicron Remnants as a Novel Nonviral Vector. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1997, 94 (26), 14547—14552.
78. de Smidt, P. C.; Bijsterbosch, M. K.; van Berkel, T. J. C. LDL as a Carrier in Site Specific Delivery. *Targeted Therapeutic Systems*; Tyle, P., Ram, B. P., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1990; 355—383.
79. *Tableting Specification Manual*, 4th Edn.; American Pharmaceutical Association, *Tableting Specification Steering Committee*; Washington, D. C., 1995; 114.
80. Banker, G. S.; Rhodes, C. T. *Modern Pharmaceutics*, 3rd Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1996; 943.
81. Lieberman, H. A.; Lachman, L.; Schwartz, J. B. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1990; 1—3.
82. Wang, P. Y. Lipids as Excipient in Sustained Release Insulin Implants. *Int. J. Pharmaceut.* 1989, 54, 223—230.
83. Joseph, A. A.; Hill, J. L.; Patel, J.; Patel, S.; Kincel, F. A. Sustained Release Hormonal Preparations XV: Release of Progesterone from Cholesterol Pellets In Vivo. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 490—493.
84. Kuo, H. S.; Muthua, S. C.; Thompson, C. R. Fat Emulsion Pyrogenicity Test. US Patent 4 245 044, 1981.
85. Dijkstra, J.; Mellors, J. W.; Ryan, J. L.; Szoka, F. C. Modulation of the Biological Activity of Bacterial Endotoxin by Incorporation into Liposomes. *J. Immunol.* 1987, 138, 2663—2670.
86. Leenaars, M.; Koedam, M. A.; Hendriksen, C. F.; Claassen, E. Immune Responses and Side Effects of Five Different Oil-Based Adjuvants in Mice. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998, 61 (2—4), 291—304.
87. Alving, C. R.; Richards, R. L. Immunologic Aspects of Liposomes. *Liposomes*; Ostro, M. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1983; 209—287.
88. Rauch, J.; Janoff, A. S. Antibodies against Phospholipids other than Cardiolipin: Potential Roles for Both Phospholipid and Protein. *Lupus* 1996, 5 (5), 498—502.

(张春娜 译)

## 冷冻干燥

Michael J. Pikal

University of Connecticut, Storrs, Connecticut, U. S. A.

### 引言

冷冻干燥,也称冻干,是一种用来将不稳定物质的溶液转化成固体,使其在运输与储藏时具有良好的稳定性的干燥工艺。典型的生产规模的冷冻干燥机,其主体是一个干燥箱体,其中有数层温控搁板,箱体与冷凝器室通过一个大型阀门相连。冷凝器箱体内由一系列的平板或线圈组成,它们能够保持非常低的温度(低于 $-50^{\circ}\text{C}$ )。在操作过程中,至少有一个真空泵与冷凝器箱体相连,使整个系统可以达到 $0.03\sim 0.3\text{ torr}$ 的真空度。商业化的冷冻机可能有 $10\sim 20$ 层搁板,总装载量达到 $50\,000$ 瓶。冷冻干燥工艺的目的是在冷冻阶段将大部分水转化成冰,然后在一次干燥阶段,通过升华将大部分冰除去,最后在二次干燥阶段通过解吸附将剩余的大部分解冻水除去,从产品中除去的水在冷凝器中再转化为冰。

通常在冷冻干燥过程中,先将含有药物和不同辅料的水溶液灌装进玻璃瓶,然后将玻璃瓶放在温控的搁板上。搁板开始降温,通过不同的阶段,可以降到 $-40^{\circ}\text{C}$ 左右,此时大部分水转化成冰。一些辅料,如缓冲盐和甘露醇,可能部分结晶,但大多数药物,尤其是蛋白质仍然是无定形状态。药物和辅料通常转化为无定形玻璃态,同时含有大量未冻结水分( $15\%\sim 30\%$ ),这些水分溶解在固体(玻璃态)的无定形相中。因此,大部分的干燥实际发生在冷冻干燥过程的冷冻阶段。在所有的水和溶质都转化为固体后,整个系统就可以用真空泵抽真空以达到所需的真空度,搁板温度的上升可以给升华提供所需的热量,随后一次干燥开始。由于一次干燥需要大量热量,所以一开始,产品温度的上升远比搁板要缓慢得多,通过升华除去冰晶,形成开放的网状孔,使产品中的水蒸气得以逸出。一次干燥时,冰-气界面(冻结和干燥区域的边缘)会从产品的顶部移向瓶底。一次干燥通常是冷冻干燥中耗时最长的阶段。一般来讲,一次干燥耗时数天是正常的,只有在很少的情况下,如欠佳的处方和不理想的工艺设计,会消耗数周的时间。虽然二次干燥确实会在一次阶段发生,即一旦冰除去后无定形相中的水也会有一定程度的解吸附,但在操作判断上,通常二次干燥的开始时间明确定义在一次干燥结束后,即所有的冰均被除去。当然,不是所有的药瓶都表现一致,有的药瓶还在一次干燥的最后阶段时,有些药瓶已经进入二次干燥。当判断所有药瓶中都没有冰时,通常要升高搁板温度给产品提供更高的温度来充分除去解冻的水分。二次干燥的最后阶段,一般将搁板温度控制在 $25\sim$

$50^{\circ}\text{C}$ 数小时。此时,由于所需的热量不多,搁板与产品的温度基本相近。

由于冻干设备非常昂贵而且工艺时间通常很长,所以冻干剂型的生产也相对昂贵。的确,考虑到成本与使用上的方便,注射剂型最好选择直接使用的溶液,尤其是如果溶液能经受最终灭菌。当一种水溶液没有足够的稳定性时,这种产品必须制备成固体剂型。至少对于小分子,稳定性通常按以下顺序递增:溶液 $<$ 玻璃态固体 $<$ 晶体<sup>[1~3]</sup>。这可能是晶体内的高度有序限制了固体内的分子运动,进一步限制了其反应性。由于很多药品不能通过结晶进行商业规模生产,玻璃态固体可能是唯一的固态选择。

在制药工业中,冷冻干燥<sup>[4~7]</sup>和喷雾干燥<sup>[8~10]</sup>是常用的干燥方法,适合于玻璃态固体的生产。冷冻干燥是一个低温过程。一般产品可能干燥到 $1\%$ 的水分或更少,而且没有任何产品会超过 $30^{\circ}\text{C}$ 。与高温的喷雾干燥工艺相比,冻干引起热降解概率低。历史上,对于注射给药,冻干是产品制备优选的方法。无菌和相对无粒子是注射剂型的关键质量特性。因为溶液在无菌过滤后立刻灌装,进一步的加工基本没有人接触。与必须对干粉进行处理的工艺,如喷雾干燥或结晶性粉末的干粉灌装相比,冻干过程在保持产品无菌和无粒子方面会更加容易。确实,在现代机械自动装载系统的情况下<sup>[11]</sup>,至少在原则上,人可以完全不进入无菌工艺区域。而且,药瓶在冻干机内封口,水分和顶空气体易于控制,这对于储存稳定性容易受到残留的水分和氧气影响的产品是非常有利的。由于冷冻干燥关键的热和质量转换性质在实验室规模 and 安全生产时是基本相同的,至少以我们的经验,规模扩大问题的解决方法,冷冻干燥比喷雾干燥更容易。此外,冻干产品的处方和工艺开发中需要较少的材料,这在项目的早期是尤其重要的一个因素。

在制药工业,冷冻干燥有着很长的历史,作为不稳定药物的稳定化技术,包括蛋白质,在冻干过程中,很多蛋白质会经受不可逆的变化和降解<sup>[12~16]</sup>。即使当不稳定药物在冻干后没有降解,但发现在长期储存的过程中很少产品有良好的稳定性,特别是在使用灵敏度可以达到测定非常低水平( $0.1\%$ )的降解物质的分析技术时。在冻干玻璃瓶的储存过程中,小分子<sup>[1~3,17]</sup>和蛋白质<sup>[18~21]</sup>都会出现降解。有时候,不稳定情况很严重,以至于需要冷藏储存<sup>[18,19,22]</sup>。

产品稳定性问题通常用处方优化和工艺控制加以解决,添加冻干赋形剂可以提高冻干过程中和储存期的稳定性,缓冲剂的种类和用量也要优化。冻干工艺的优化可能是关

键；对于易在一次干燥时塌陷的产品，控制其干燥温度是关键，并且控制残余的水分对于储存稳定性几乎总是关键。处方和工艺是相互关联的，一个坏处方几乎不可能冻干，甚至对于设计很好的处方，一个设计不好的工艺可能需要一周以上的时间来生产未达最佳质量的材料。虽然盲目的经验主义有时也可以得到可接受的处方和工艺，但有效开发冻干产品，需要对无定形系统的材料科学的理解，以及对冷冻干燥过程中热和质量转移的了解。显然，也需要至少现象上理解该药物的主要降解途径。

本章的目标是为了生产冻干药品，给出在处方和工艺开发方面最有用的科学和工程基础。一般原则通过文献中的具体例子加以说明，但不会试图调查全部发表的工作。关于冻干工艺的大部分内容同时适用于小分子和蛋白质，而关于处方和稳定性的大部分内容是专门针对蛋白质的。

## 冻干工艺

### 1. 冷冻

#### 1.1 冷冻浓度

冷冻的目的是通过形成冰，除去系统中大部分水，并将溶质全部转化为固体，不管是结晶固体或玻璃态。一旦样品固化，一次干燥就开始了。样品冷却时，系统在平衡凝固点以下仍然保持液态，不过在足够的冷却下，冰迅速成核，并且冰晶开始长大。当液态水转化成冰，所有的溶质浓缩在冰晶之间的区域中，最终浓缩形成结晶，或系统黏性增加足以转化成固体无定形或玻璃态系统。图1的例子表示在冷冻干燥时不结晶的溶质。系统从10℃快速冷却到-15℃，冰核来不及产生冰晶。突然冰晶化产生的热会使样品温度增加至平衡凝固点附近（-5℃）。突然的冰晶化也会导致溶质相中水分程度小但急剧地减少（由右边的垂直轴表示），在最初10min的冰核和结晶后，产品冷却，水连续形成冰，因而减少了溶质相的水分，增加了溶质在余下的溶液中的浓度。当产品温度达到-24℃时（标记为 $T_g'$ ），溶质相中的水的浓度已经减少至24%，随着时间的推进，水分的减少程度会降低，尽管在冷冻60min后，样品温度会进一步降至-30℃。从而溶质相中溶质的浓度从30%上升到76%，大部分的水以冰的形式从溶质相中分离出去。假设初始浓度很低，为1%，最终浓度会达到76%，尽管冷冻曲线与图1中所表示的有一些量的区别。很明显，冻干工艺中大部分的干燥在冷冻阶段就开始了。当确实需要干燥时，必须认识到在冷冻时所有溶质浓缩会显著增加双分子碰撞的可能性，可能在部分冷冻的系统中会产生不可预期的不稳定性。如果一个系统，溶质初始浓度为1%，在25kcal/mol的活化能下可能会有二级降解，将温度从5℃降到-24℃，则速率常数会降低200倍，但是浓度从1%升到76%会使浓度因子增加5800倍，结果使总速率常

数增加29倍。虽然这个例子过于简化，但是在模型系统冷冻浓缩时观察到二级降解率的增加是很重要的<sup>[23]</sup>。

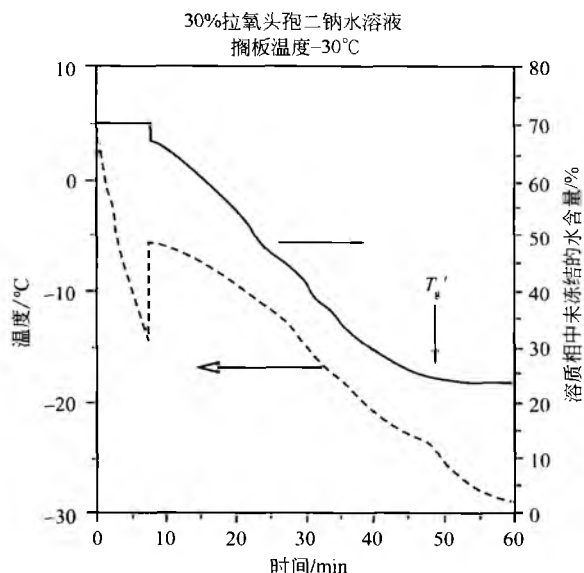


图1 无定形系统的冷冻浓度<sup>[6]</sup>。产品温度用虚线表示，未冻结水的含量以实线表示

$T_g'$ 是冷冻溶液用差示扫描量热法进行分析时，基线迅速升高时的温度，表明此时热容显著增加，为最大限度浓缩的冷冻物的玻璃化转变温度<sup>[24]</sup>。冷冻系统电阻的急剧下降也是在同一温度。干燥区域冻干物的塌陷，表示黏性流，发生在一次干燥塌陷温度时，标示为 $T_c'$ ，比 $T_g'$ 略高<sup>[25]</sup>。很明显，与系统流动的温度相应的 $T_g'$ 由实验的时间轴表示。在 $T_g'$ 以下时，系统表现为固体。

不同的电解液，如缓冲液和氯化钠，如果存在于处方中，在冷冻过程中也会浓缩。暴露在如此高浓度的电解液中，如冷冻0.15mol/L氯化钠溶液时有6mol氯化钠，可能会使天然构象的稳定性降低，因此在冷冻时会引起降解。

#### 1.2 辅料的结晶和后果

如果药物是蛋白质，药物不会结晶，但其他溶质组分可能会也可能不会结晶，取决于其性质和浓度、处方中其他组分和冷冻过程的细节。较高的初始浓度和缓慢的冷冻进程会引起结晶。根据辅料的作用，有时希望结晶而有时不希望，重要的是结晶在工艺进程中何时发生。例如，如果甘露醇只是作为填充剂，并不对药物起到稳定作用，我们需要其结晶，因为甘露醇晶体可以在较高的温度很容易地冻干，且产品外观很漂亮，这就意味着冻干周期变短，不会发生像塌陷这样的产品缺陷。此时，药物形式是以无定形包裹在甘露醇晶体上，其稳定性通常与不加甘露醇的冷冻系统相似。如果甘露醇在冷冻时为无定形，在一次干燥的初期开始结晶，产品温度增加时仍然在冷冻与晶体化时保持不定形状态，可能会发生广泛的破瓶<sup>[26]</sup>。相反，如果甘露醇在干燥与储存时作为稳定剂，我们是不希望其结

晶的。完全结晶会使系统相当于玻璃态的药物颗粒与甘露醇晶体的物理混合物,除了在两相界面,其他部分是没有机会产生稳定性相互作用的。没有药物分子的稀释,在蛋白质分子中就没有蛋白质相的反应物被分离出来。简单地说,任何可能的稳定化机理都至少有一些保持分子状态的甘露醇分散在无定形药物中。当然,甘露醇晶体在任何液体中都具有一定的溶解度,其在药物相中会有一个非零的热力学稳定性。因此,即使甘露醇结晶达到热力学平衡,少量的甘露醇仍然会存在于药物相中。但是,甘露醇在结晶后大多数会失去稳定化的趋势。当作为处方中的主要成分时,甘露醇的确会完全结晶,通常它不作为冷冻干燥的稳定剂。

虽然处方中加入缓冲液是为了维持稳定的 pH,冷冻时溶解度较小的缓冲盐成分会选择性地结晶,导致冷冻浓缩物的大幅度 pH 漂移。图 2 表示在不同的缓冲体系中,冷冻平衡时的 pH 的变化<sup>[27]</sup>。在加入冰核和缓冲盐晶体时进行冷冻,所以数据代表了接近平衡时的行为。超过研究范围的温度后,柠檬酸盐缓冲系统并没有表现出明显的 pH 漂移,磷酸盐缓冲系统 pH 显著减少了 4 个单位,这是由于碱性缓冲组分  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  的结晶造成的。相反,磷酸钾系统只表现出 0.8pH 单位的缓和增加。在非平衡条件(无晶种)和低缓冲盐浓度情况下,结晶程度很小,导致 pH 的漂移也很缓和<sup>[28]</sup>。表 1 的数据是大容量磷酸盐缓冲液在模拟药瓶冷冻的速率时得到的<sup>[29,30]</sup>,对于浓的缓冲液(100mmol/L),冷冻的 pH 与图 2 中所给的平衡值相近,但是,降低缓冲液浓度一个数量级会相当明显地减少冷冻过程中 pH 的漂移。应该注意到图 2 中磷酸钾的小幅度 pH 漂移是初始 pH 为 7.5 的结果。如表 1 所示,如果初始 pH 为 5.5,100mmol/L 的磷酸钾在冷冻时会增加 3.1 个 pH 单位。简单地说,冷冻系统的 pH 接近 8.7,不管初始 pH 是 7.0 还是 5.5。很明显,如果药物的稳定性对于 pH 的波动很敏感,必须避免缓冲盐的结晶。以我们的经验,最好的溶液是处方中缓冲盐与溶质的质量比非常小<sup>[18,22]</sup>。但是,“非常小”的精确含意随着其他溶质的性质与用量的变化,以及缓冲盐的性质的变化而改变。

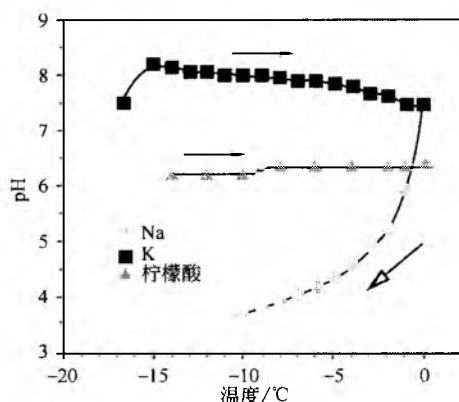


图 2 冷冻时缓冲盐结晶引起的 pH 变化。加入冰和盐晶种可以获得近平衡状态<sup>[27]</sup>

表 1 磷酸盐缓冲体系非平衡冷冻时的 pH 变化<sup>[29,30]</sup>

浓度/(mmol/L)	初始 pH	冷冻 pH	$\Delta\text{pH}$
磷酸钠缓冲液			
100	7.5	4.1	-3.4
8	7.5	5.1	-2.4
磷酸钾缓冲液			
100	7.0	8.7	+1.7
100	5.5	8.6	+3.1
10	5.5	6.6	+1.1

### 1.3 冷冻时的不稳定性和 $T_g'$

在冷冻过程中,即使储存稳定性上会有所降低,大多数小分子是稳定的。蛋白质的稳定性对处方的成分很敏感,一些蛋白质在冷冻时活性不会降低,而另一些会在冷冻过程中不可逆失活<sup>[12~21,31~33]</sup>。在冷冻时会产生与稀水溶液明显不同的环境,所有的溶质大幅度浓缩,离子强度增加,pH 可能会漂移,更有甚者,由于从蛋白质相中除去大量的水,水中稳定天然构象的疏水相互作用会减弱或消失。并且,就像蛋白质在高温时经受热变性一样,在很低的温度时蛋白质会经受自然的展开,称为低温变性<sup>[34,35]</sup>。估计低温变性温度通常是在蛋白质处方的  $T_g'$  以下,因此怀疑与冷冻干燥相关。但是,这些估计是基于稀水溶液中测量得到的热力学参数,冷冻浓缩引起的搅动影响还基本未知。

因为这些冷冻压力会减少变性的自由能,所以在冷冻时天然构象的热力学不稳定性并不奇怪。确实,在冷冻时非常奇怪的是,并不是所有蛋白质同时结构打开或降解。但是,对于不稳定蛋白质的结构展开和随后的不可逆反应,蛋白质展开的速率一定与冻干的时间进程相关。即使在室温的稀溶液中,蛋白质的展开也会与时间常数(数小时)有关<sup>[36,37]</sup>。在冷冻浓缩接近  $T_g'$  时,约比室温低 30°C,黏度大约是稀溶液的 10 倍,人们期望明显减小结构展开的速率,以防止冷冻时降解的发生。 $T_g'$  附近展开的动力学研究会解决这个问题,然而没有得到这些数据。有人在理论基础上进行争论,通常系统温度接近玻璃化温度时速率应该大大降低<sup>[33]</sup>。对于冷冻糊精-麦芽糖系统的三种不同反应的实验研究支持这种观点,虽然不是所有的反应在玻璃化转变时有相同的强温度依赖性<sup>[38]</sup>。一般来讲,冷冻浓缩时要谨慎将蛋白质在  $T_g'$  以上的经历时间减到最少,如最小化冷冻时间,一次干燥应该在接近或低于  $T_g'$  以下进行。但是,这些预防措施并不能总是保证其稳定性。

### 1.4 最佳冻结速率

通常,冻结过程以冻结速率表示,大多数情况下,它是对冷源的温度变化的真实表现,更理想的是指定溶液的冷冻速率。但是,至少需要 2 个冷冻参数来确定冷冻过程——冷冻的程度和冰结晶的速率。冷冻程度是平衡冻结点与样品中结晶首先形成的温度的差值,它决定了冰核的数量,从而也就确定了样品中冰晶形成的数量。冷冻程度

## L

高会产生大量的冰晶,冻结的水的总量是固定的,冻结完全后产生的冰晶是很小的。冰晶的大小会影响到工艺设计及产品质量,后面会讨论。冰晶的成长速率确定了产品在冷冻浓缩流体状态的滞留时间。快的成长速率令其滞留时间减到最少,使冷冻过程中发生降解的情况很少。在实际冻干应用中,热转移限制了冰生长的速率。因此,药瓶与盘的热是通过容器底部除去的,通过小的灌装体积与容器表面积比(即灌装较浅)以及容器底部与冻干搁板之间良好的接触,可以加快冰的成长。通常,低搁板温度也会促进冰的快速成长。但是,如果将灌装较高的温药瓶置于温度很低的搁板上,冷量还来不及传送到溶液的上部,就在瓶底部分发生高度的冷冻。从而在瓶底附近结成冰,而剩下的部分依然保持液体状态。冷冻会把冻结界面慢慢从底部上升到顶部。这样的冷冻方式通常会使得干燥块有两个不同性质的结构:底部的区域是小孔结构,在冻结界面上升的过程中由于形成很大的冰晶,大多数块都有很大的孔状结构。该产品可能外观不漂亮,至少是设计的快速冻结由慢速冻结取代。

高度的冷冻会产生小冰晶并在干燥层中产生小孔,这会在一次干燥时阻止水蒸气的转移<sup>[39]</sup>,从而延长了一次干燥的时间。小冰晶同样也意味着干燥成品的高比表面积,这会减少二次干燥的时间<sup>[40]</sup>。该趋势意味着缓和的冷冻程度是最佳选择。冰晶的大小可能不会影响产品的质量,但如果蛋白质在水-冰界面变性,小冰晶就意味着大的界面面积和更多的变性,可能在冷冻时造成聚集的增加。现在有证据证明,至少在某些例子中,蛋白质可能的确会在水-冰界面发生变性<sup>[41,42]</sup>。

通常,最佳的冷冻过程产生的是中等和均一的冷冻以及快速的冰成长。瓶内的一致性避免了干燥块的多相结构,而瓶与瓶之间的一致性使干燥速率与样品温度之间的差异减到最小。同时达到中等的冷冻和快速的冰成长是很难的,在实际操作中,冷冻时只有散热装置(如搁板)的冷却速率是唯一可控的因素。遵循一般的程序可以给出一个满意的结果。首先,产品的载体可以冷却到平衡冷冻点以下,经验证明,高于平衡冷冻点,不会发生冰的成核的温度(通常为 $-5^{\circ}\text{C}$ ),在这个温度保持一小段时间,如15~30min。然后,搁板温度会迅速降到最终温度,如以 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度降至 $-40^{\circ}\text{C}$ 。至少在灌装深度小(约1cm)的瓶子中,在缓和冷冻下会均一形成冰核,而冰的成长相对较快。当对摆放温度传感器的瓶子进行产品温度监测时,记录产品温度低于给定温度的时间,如产品温度比最终搁板温度高几度。由于装有温度传感器的药瓶会比同批其他产品冷冻快一些<sup>[43]</sup>,所以产品要放置固定的时间(约1h)使得所有的药瓶都达到所需的温度,都处于固体状态。

## 2. 一次干燥

### 2.1 质量转移阻力、产品温度和干燥速率

产品温度和质量转移阻力对升华速率的影响可以用数

学公式(1)来表达<sup>[39,44]</sup>,升华速率表示为 $\text{d}m/\text{d}t$ ,将水蒸气从冰-气界面转移到箱体的驱动力为 $p_0 - p_c$ :

$$\frac{\text{d}m}{\text{d}t} = \frac{p_0 - p_c}{R_p + R_s} \quad (1)$$

式中: $p_0$ 为冰在冷冻产品的温度时的平衡蒸汽压; $p_c$ 为干燥箱体压力; $R_p$ 为干燥产品层的阻力; $R_s$ 为瓶塞的阻力。 $p_0$ 随温度呈指数增长,很明显,升华的驱动力以及升华速率在产品温度增加时,都会显著增加,即温度每增加 $5^{\circ}\text{C}$ ,升华速率增加1倍。图3表示在产品温度增加时一次干燥时间的减少,这些数据是假想的,但是典型的产品的数据。基于式(1)积分计算结果,灌装深度分别为0.5cm和2.0cm。箱体的压力值因为要维持 $p_0 \gg p_c$ 的条件而变化,但其压力尽可能维持在质量转移的最佳值附近(0.1~0.3 torr)<sup>[44]</sup>。在产品温度最低时,选择的箱体压力远低于均匀质量转移的最佳值,但更高的压力会显著延长干燥时间。在每一个温度,干燥时间约正比于灌装深度的平方根,对于2cm的灌装深度,目标温度低于 $-40^{\circ}\text{C}$ 不切实际。

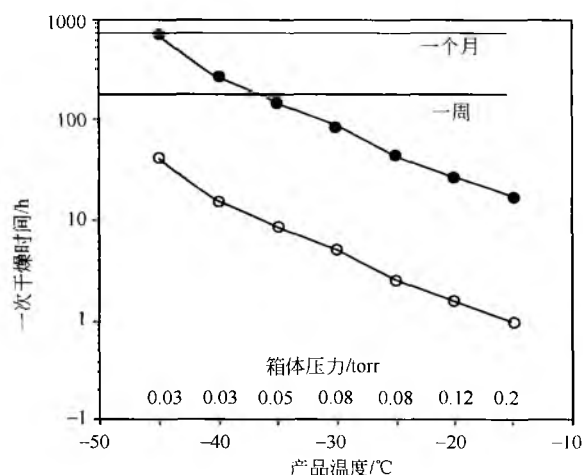


图3 典型产品的温度与一次干燥时间的计算关系。  
空心圈=0.5cm 灌装深度; 实心圈=2.0cm 灌装深度

需要注意的是,方程(1)假设瓶中的气体都是水蒸气,理论和经验都表明,在实际操作中,大多数一次干燥条件下,瓶内与干燥箱中的气体几乎都是水蒸气,甚至通过惰性气体调节箱体压力时也是这样<sup>[44]</sup>。泄漏进冻干箱内的惰性气体(如氮气),在一次干燥中,其摩尔流速通常比水蒸气的要小得多,所以冻干箱内气体的组成基本上是水蒸气。惰性气体阻碍真空泵,因此会增加泵系统的总压力,从而引起水蒸气回流进入冻干箱。

很明显,快速冷冻干燥需要较高的目标产品温度和较浅的灌装深度,但这并不总是可能的。为了保持产品的美观,将产品的降解减到最小限度,一次干燥必须在低于塌陷温度的产品温度下进行。如前所述,塌陷温度和 $T_g'$ 很相近,比 $T_g'$ 要高几度。实际上,需要意识到并不是所有的药瓶会在相同温度下冷冻和干燥。为保证安全,选择产品目标温度要比塌陷温度低一点。塌陷温度是所有组分为

无定形态时的特性,所以塌陷温度是高度取决于处方的<sup>[45,46]</sup>。

在确定一次干燥的速率时,虽然产品温度通常是最重要的因素,但是产品阻力也是一个重要的参数。干燥产品的阻力  $R_p$  取决于产品的截面积  $A_p$ , 它们的关系如下:  $R_p = \hat{R}_p / A_p$ , 其中  $\hat{R}_p$  是面积校正的阻力,与产品面积无关,与产品的特性和干燥的厚度有关,因此  $R_p$  取决于使用的药瓶,其  $A_p$  由瓶子的内径确定。 $\hat{R}_p$  的单位<sup>[39,44]</sup>是  $\text{cm}^2 \cdot \text{torr} \cdot \text{h/g}$ , 实际意义就是在一次干燥阶段时如果阻力保持常数,那么  $\hat{R}_p$  就代表将 1cm 厚的样品在  $-20^\circ\text{C}$  时冷冻干燥所需要的大致时间 (h)。随着干燥层厚度的增加,阻力也会相应增加,因此,阻力会在一次干燥过程中增加。虽然阻力与干燥层厚度会大致成线性,但它们之间不是正好成比例的<sup>[39,44]</sup>。

图 4 中表示产品阻力随着浓度变化而变化,对于不同产品的不同总溶质浓度,用平均产品阻力  $\langle \hat{R}_p \rangle$  来表示。平均产品阻力是干燥层厚度 0~1cm 的平均阻力。由于通常的趋势是随着浓度增加,会产生更大的阻力,因此会使干燥时间更长,所以散点反映的是处方特异性影响。13mm 的小瓶塞的阻力的值一般用直线表示,注意非常稀的溶液除外,  $R_p \gg R_s$ 。

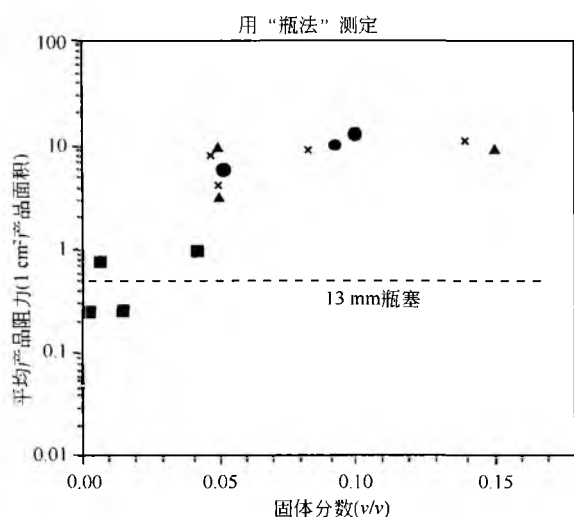


图 4 不同产品的平均阻力值,

■ 蛋白质; ● 多肽; ▲ 糖类; ○ 纯冰; × 其他类型

## 2.2 过程控制: 产品温度测量

在大多数商业冷冻干燥过程中,只有箱体压力、搁板温度和时间是可控制的工艺参数。产品温度是不能直接控制的,热与质量转换的平衡决定产品温度<sup>[47]</sup>。很明显,搁板温度在决定热交换和产品温度时很重要。因为大多数热传递是通过气体进行的(如热搁板表面和冷的瓶底部的气体分子碰撞),热交换和质量转换部分取决于箱体的压力[式(1)]。因此,产品温度由搁板温度、箱体压力、瓶的热交换特性、产品的质量转换特性以及半加塞的冻干瓶

决定。

通过将温度传感器放在少量瓶底部中心位置来监测产品温度。假设平均测量温度代表剩余未进行监测的产品温度。产品温度随时间变化的趋势用于确定一次干燥的结束时间。那就是说,假设瓶中所有的冰都已经除去,测量的产品温度在预期的一次干燥结束前急剧升高,并开始接近搁板温度。通常对于冻干瓶,这种假设是正确的。当所有的瓶中都有温度传感器并用这种标准来判断时,可能会假设所有的瓶都干了。这种假设通常是不正确的。有温度传感器的瓶并不能代表一整批。在所监测的瓶中和剩余的瓶中存在着温度和干燥速率的偏倚。所监测的冻干瓶通常要比其他样品更快冻结<sup>[43]</sup>。在生产中这种现象尤其重要,这是由于无粒子环境中,温度传感器引入了大量的异源的成核位点,因此相对于没有传感器的瓶,其在低温就可以引起冰的成核。图 5 是拉氧头孢生产的情况<sup>[43]</sup>。监测的瓶冷却到将近  $-15^\circ\text{C}$ , 然后开始冷冻。未监测的瓶直到很晚才开始冷冻,此时产品温度与搁板温度接近,约  $-25^\circ\text{C}$ 。这样,未监测瓶就要经过很大程度的冷却,有着更小的冰晶和孔,对于质量转换有更大的阻力,在更高的温度冷冻干燥,需要更长的干燥时间。一次干燥的温度偏差通常很小,约为  $1^\circ\text{C}$ ,但是干燥时间的偏差要有 10%,对于长时间的一次干燥是十分重要的<sup>[43]</sup>。为了补偿这种干燥时间的偏差,在判断所有的监测瓶都干燥后,再额外加上 10%~15% 的一次干燥时间,继续干燥样品。这段时间过后进入二次干燥。过早增加搁板温度会增加塌陷的危险。这样,虽然监测样品温度会提供一些一次干燥过程中的信息,但所提供的信息是远远不够的。

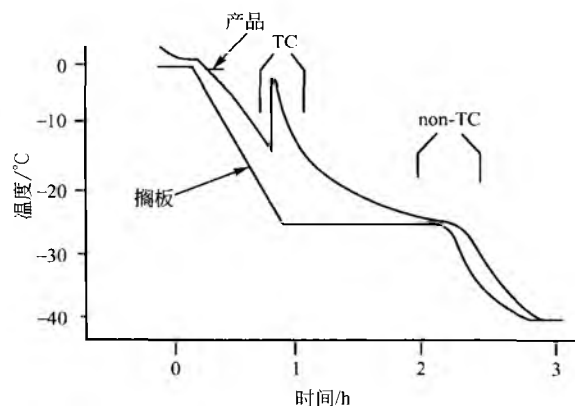


图 5 冷冻偏差的实验观察: 拉氧头孢二钠的生产<sup>[42]</sup>

所监测的瓶在搁板上所有瓶子中的位置也是记录的数据有无代表性的一个重要因素。排在边缘的瓶(靠近干燥机门或壁)通常不能代表排在内部的瓶<sup>[44]</sup>。由于热辐射传递的差异,这些瓶通常在较高温度下干得更快。如果搁板温度为  $5^\circ\text{C}$ , 温度偏差为  $1^\circ\text{C}$ , 干燥时间偏差为 10%<sup>[44]</sup>, 在搁板温度和环境温度的差异增加以及箱体压力降低的情况下,这种效应会增加。但是,为了使周围瓶的染菌机会降到最小,通常将温度传感器放在正对门的一

列瓶中的靠边缘的瓶中。此时,所监测的瓶不能代表整批样品。很明显,将产品污染微生物的机会降到最小是极其重要的。从无菌保证的观点来看,最终的低风险过程是在完全自动化的装载系统下实现的,原则上,除了紧急情况,可以免除人出现在无菌区域。但是,在使用自动化装载系统时放置温度传感器是很困难的,或许是不可能的。如果注意到常规使用产品温度传感器存在上述问题,那么只有在开发和验证时使用产品温度传感器,并且将其放置在阵列的中间进行监测,这似乎是合理的。根据稳定的工艺和合理的验证数据,批生产应该在与开发和验证相同的温度下进行,这样,可以在常规生产时不监测产品温度。最简单的工艺设计包括固定的搁板温度、箱体压力和时间程序。

当一次干燥时间较短时,基于固定的搁板温度、箱体压力和时间程序设计有效和稳定的工艺并不很难。例如,平均每批的一次干燥时间为 6h,最差的设计情况可能要 2 倍的一次干燥时间,即延长了 6h。但是,如果平均每批的一次干燥时间为 4 天,则最差的情况会导致产能的明显降低。通过对一次干燥的终点使用远程检测的方法<sup>[43]</sup>,工艺的无效性事实上可以消除,这将在后面进行讨论。并且,对样品温度监测不使用放置温度传感器不但是可能的,也是可以操作的。这种方法,称为压力温度测量,是基于周期性地将分隔干燥箱和冷凝室的阀门快速关闭(压力控制系统未激活)很短一段时间(约 15s),分析此时的压力增加速率。当干燥箱与冷凝室分隔后,箱体压力增加有 4 种原因(图 6):①冰-气界面在产品温度恒定时升华,以及水蒸气通过干燥团块转移;②冻结层的温度梯度的消失,会增加冰-气界面的温度;③从搁板到产品的热气流,会增加冰-气界面的温度;④周围环境中的空气自然泄漏进箱体。压力上升的数据拟合成理论函数,可以得到冰-气界面的平均产品温度。效应 3 和 4 会导致压力随时间线性增加,而 1 和 2 则是非线性的,效应 1 是最主要的(图 6),但是其他效应也应加以考虑,以得到精确的产品温度<sup>[48]</sup>。压力温度测量给出了冰-气界面的温度,该温度与塌陷相关,最重要的是,在没有被影响无菌程度的情况下,得到了代表产品的温度。但是,冷冻干燥器必须由计算机控制,以通过对压力上升数据的数学分析得到实时的产品温度。压力温度测量也可用来判断一次干燥的终点和提供精确的干燥层阻力数据<sup>[48]</sup>。

### 2.3 过程控制和箱体压力

压力控制可以由以下 3 种方法之一实现:控制氮气泄漏、控制传导或者控制冷凝器温度。通过控制氮气泄漏实现对压力的控制,是通过开/闭与大气压氮气源相连的针阀,以补偿测量的箱体压力与设定值的偏差。这种方法很容易实现非常精确的压力控制,达 $\pm 5$ mtorr。通常是将无菌氮气泄漏进干燥箱,但将氮气泄漏进真空泵附近的真空管道中可以同样实现控制。虽然没有相关的数据,但现存的

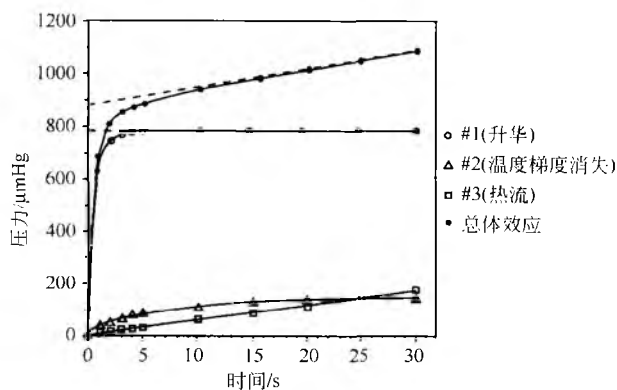


图 6 压力温度测量实验中计算各效应对压力升高的贡献。计算基于一典型的产品,初始冰温度为 $-20^{\circ}\text{C}$ ,相应初始压力为 775mtorr<sup>[-8]</sup>

教条表明泄漏进干燥箱更好,因为可以减少无菌程度的破坏。传导控制是基于调整箱体到冷凝器通路的阻力,通过部分闭/开分隔干燥箱体和冷凝器室的阀门来实现<sup>[49]</sup>。该技术的不利方面是不能在二次干燥时对压力进行控制。一旦水蒸气的生成速率极低(二次干燥时),箱体压力会减小到最终真空系统所能达到的压力。虽然只是在一次干燥时有必要控制箱体压力以调节热的传导,但有人争辩说,未在整个过程中进行压力控制的工艺是不能完全重现的。总体上,这种争论没有科学依据,但在特殊例子中产品因吸附瓶塞挥发性杂质(或冷冻机中的其他外来气体)而发生的污染,这种污染在箱体压力非常低时是很严重的<sup>[50]</sup>。因而,需要在二次干燥时对箱体压力进行控制,以达到一定的水平(约 200mtorr)。只要冷冻干燥机的设计可以进行冷凝器温度的精确控制<sup>[49]</sup>,箱体压力也可以通过控制冷凝器温度来进行。控制冷凝器温度就控制了冷凝器上冰的蒸汽压,从而控制干燥箱中水的分压。由于自然空气泄漏和质量转移时需要冷凝器与箱体之间一定的压差,所控制的箱体压力会比冷凝器上冰的蒸汽压稍高,可能有 20~50mtorr。这样,把箱体压力控制在 200mtorr,冷凝器温度控制在 $-35^{\circ}\text{C}$ 左右。在这种压力控制模式下,干燥腔内在整个过程中可以保持 100%的水蒸气,包括二次干燥。相反,通过氮气泄漏的方法进行控制,从一次干燥时的 100%的水蒸气逐渐转变到二次干燥时的大部分氮气(图 7)。用氮气泄漏进行的压力控制与通过控制冷凝器温度进行的压力控制不完全一样。一般来说,这种差别并不会具有实际意义。对于在二次干燥时最终温度达到 $25^{\circ}\text{C}$ 或更高的产品,200mtorr 的纯蒸汽箱体压力会产生小于 0.8%的相对湿度,这个湿度不会阻碍大多数物质的二次干燥。但是图 7 表明,通过控制冷凝器温度进行压力控制,在一次干燥转变成二次干燥时不会引起气体组成的变化,从而限制了过程控制选择点以判断一次干燥的终点。



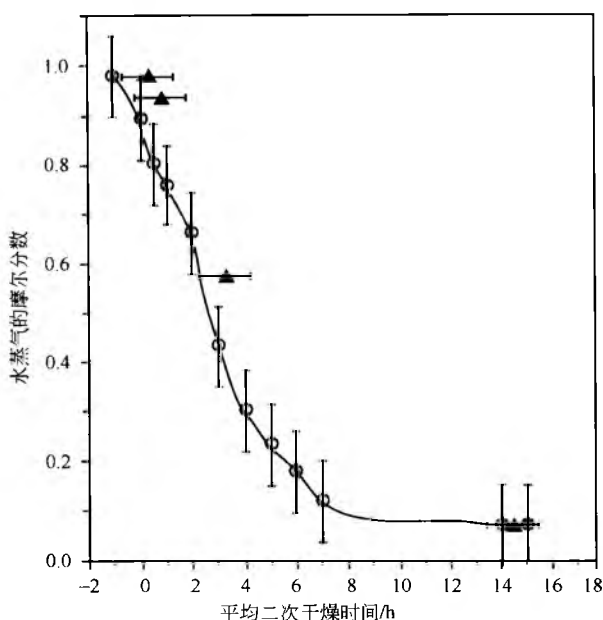


图7 二次干燥时干燥箱中气体组成的典型变化。空心圈代表在实验室冻干机中的实验测定值；实心三角代表按质量转移理论和冻干机特性计算的理论值

#### 2.4 过程控制：冷凝器性能的作用

根据冻干机的设计和操作条件，冷凝器的温度变化范围很广。只要冷凝器的温度保持足够低，可以将箱体压力控制在所需的设定值，冷凝器的温度对冻干过程没有影响[对式(1)的变量都没有影响]。例如，如果箱体压力控制在0.10torr，冷凝器温度控制在 $-50^{\circ}\text{C}$ ，将冷凝器温度降到 $-70^{\circ}\text{C}$ 对过程没有影响，此时冷凝器中减少的水蒸气分压会通过自动增加氮气泄漏率来进行部分补偿。虽然对于冷凝器性能的详细分析相当复杂并且超过了本章节的范围<sup>[49]</sup>，但在提高升华速率时应该注意到，冷凝器系统可能过载，导致压力的损失（如箱体压力的增加无法控制）。除非搁板温度急剧降低，否则在失去产品温度控制的情况下会形成逃逸条件，最终由于产品塌陷或冰的融化造成批损失。冷凝器过载后会在冷凝器平板上产生不均匀冰层，这是由非理想的设计或操作引起的，但也可能由超出冷冻系统设计能力的误操作产生<sup>[49]</sup>，即冷冻系统可能不能及时将水蒸气凝结的热量除去（升华速率太高），且不能保持冷凝器平板的低温状态。

#### 2.5 过程控制：对一次干燥终点的判断

通常在一次干燥时所设定的搁板温度比在二次干燥时需要的充分去除残留水分的温度低得多。因为在所有药瓶完成一次干燥前如果增加板层温度会增加产品塌陷的危险，因此需要在最佳的进程控制下对一次干燥的终点有一些指示。当然，在二次干燥时可以在固定时间对搁板进行升温，就像前面讨论的那样，该过程并不是最佳的。产品温度常

用于指示一次干燥终点。需要注意该时间为所有的温度传感器接近一次干燥时搁板温度的时间。然后，延长一段时间，因为置入温度传感器的瓶不能代表整个批量的温度。然后即可将一次干燥时的温度升高到二次干燥所需的温度。因为对于所需的延长时间很难判断，所以所用的延长时间就会很主观。主要问题是开发和生产时的冷冻偏差会相当大。因此，大多数开发实验室不能确定生产时最佳的延长时间。很明显，使用产品温度传感器来确定一次干燥的终点不是完全令人满意的。就像前面建议的，气压温度测量可以用来确定一次干燥的终点。更简单的方法是对冻干机箱体内部的气体组成进行实时分析来确定终点。当一次干燥结束后，转到二次干燥，假设箱体压力是通过氮气泄漏来控制的，那干燥腔内的蒸汽组成从几乎纯水蒸气转变到将近纯的氮气（图7）。对于水蒸气组成的测量，既灵敏又廉价的方法是用电子湿度传感器输出露点或水分压<sup>[43,51]</sup>。电子湿度传感器的灵敏度足以测定瓶中的冰少于1%的量<sup>[43]</sup>，在一些条件下也可用来确定二次干燥的终点，例如，当残留水分已经减少至目标水平以下时<sup>[51]</sup>。

### 3. 二次干燥：冷冻浓缩物中水的解吸附

#### 3.1 产品温度控制和玻璃态转化

一次干燥时必须将产品温度保持在塌陷温度以下，现在已经普遍接受这个概念。超过塌陷温度会引起产品外观的缺陷，从一般的收缩变形到完全熔融并沉淀在瓶壁与瓶底。结构塌陷同样会发生在二次干燥及干燥产品的储存中，尤其是在干燥产品含有太多残留水分或存储温度过高情况下。如果产品温度超过其玻璃化转变温度，会发生干燥块收缩和变形。而这个问题相对一次干燥来说，并不是经常发生，在很大程度上是由于二次干燥在早期都是极端保守的，此时很可能是玻璃态的转化阶段。由于在干燥时减少了无定形相中水的含量，玻璃化转变温度急剧增加。图8显示了一些有代表性的数据。在二次干燥的开始几个小时如果搁板温度保持在一次干燥时的设定值，玻璃化转变温度会一直上升，比产品温度的上升快得多。如果要优化二次干燥，在二次干燥早期消除大部分死时间，玻璃化转变的趋势会急剧增加。因此，对于工艺的优化需要知道玻璃化转变温度与含水量的关系。

#### 3.2 最适残留水分

对于给定产品，最适残留水分由实验研究确定。当然，为了避免存放时可能的结构塌陷，含水量必须要足够低，以保证玻璃化转变温度要于产品流通与存储环节中涉及的最高温度。然而，以经验看，在工艺中最终残留水分对小分子和蛋白质的降解相对并不敏感。虽然稳定性和残留水分之间并不十分呈线性，但是残留水分降低会提高储存的稳定性。处方中含有甘氨酸和甘露醇的人生长激素<sup>[19]</sup>、人血白蛋白<sup>[52]</sup>，处方中含有蔗糖的血色素<sup>[53]</sup>，其数据表明了一些通常会遇到的问题（图9）。在 $25^{\circ}\text{C}$ ，水分从1%变化

到 2.5% 时,人生长激素的化学降解速率(甲硫氨酸氧化和天冬酰胺酸脱氨基),会呈非线性指数增加<sup>[19]</sup>。而水分增加时,人血白蛋白的聚集速率也呈线性增加<sup>[52]</sup>。当水分从 1% 到 4% 时,血红素室温时的氧化速率会加倍<sup>[53]</sup>。对于储藏稳定性来说,最好是没有水分,但不含水分和含有 1% 水分之间的稳定性变化不足以表明需要额外的复杂工艺以达到并保持极低的含水量。储藏稳定性中也有例外,单克隆抗体-长春花碱复合物对极低的水分也会非常敏感<sup>[22]</sup>。

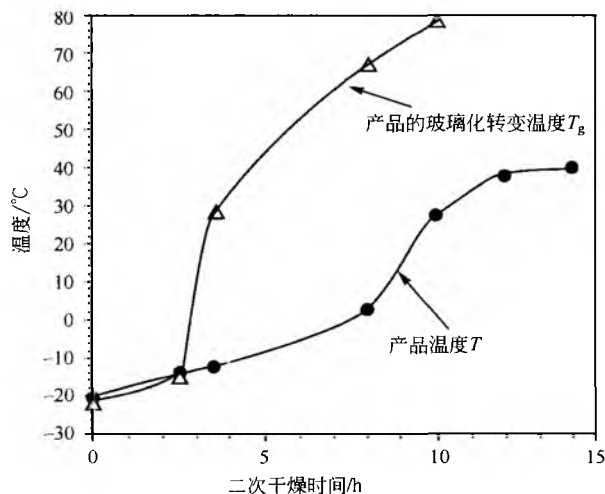


图8 拉氧头孢二钠在二次干燥时的玻璃化转变温度和产品温度<sup>[25,40]</sup>

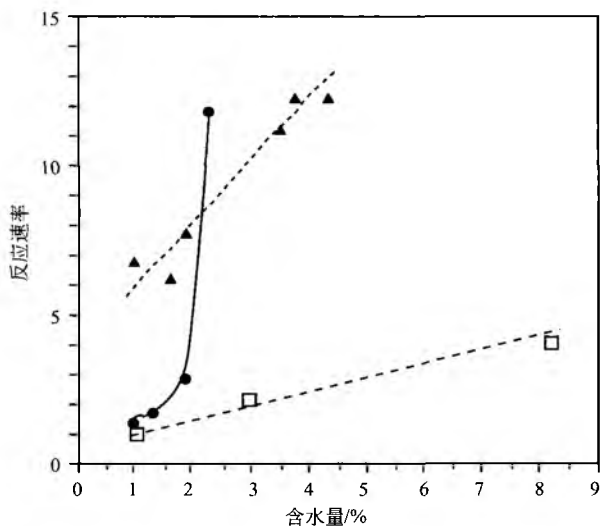


图9 残留水对冻干蛋白质的影响。●人生长激素在 25°C 的脱氨和氧化 (月)<sup>[19]</sup>；□人血白蛋白在 50°C 的聚集 (天)<sup>[52]</sup>；▲血色素在 23°C 的蔗糖处方中的氧化 (年)<sup>[53]</sup>

通常随着水分的增加,储存稳定性降低,可以用固体中的分子流动性进行解释。也就是说,高含水量增加蛋白质流动性从而增强其反应活性。一种解释认为在单层水中,蛋白质增加了构象的灵活性,附加的水能移动无定形蛋白相中的水和其他可能的反应物<sup>[54]</sup>。两种作用均能增加蛋白

质的降解速率。另外,水能增塑无定形相,因而降低其玻璃化转变温度  $T_g$ 。如果存在足量的水的确能将  $T_g$  降低至储存温度以下,无定形相会处于流动状态,与处于  $T_g$  以下的玻璃态固体相比,移动性更好,反应活性更大。储存于  $T_g$  以上的系统也会发生干燥块塌陷,从而影响制剂的外观。尽管单层水和玻璃化解释在说明反应活性增加与水引起的无定形相移动有关方面是一致的,但它们有区别,其区别在于:处于单层水以上的系统不一定处于玻璃化转变温度以上;因为单层覆盖水的程度实质上与温度无关,单层概念预测稳定性与含水量的趋势与温度无关。例如,如果单层覆盖相当于 10% 的含水量,在含水量超过 10% 时各个温度下蛋白质的反应活性会显著增加。因此,玻璃化解释说明重要的稳定性变量是玻璃化转变温度和储存温度的差值,即  $T - T_g$ 。当  $T > T_g$  时,反应活性显著增加,因而反应的突然开始取决于  $T$  和水分对  $T_g$  的作用。

虽然大多数经验与理论证据都表明,储存稳定性单向地随着水分的减少有所改善,我们必须承认通常假设在冻干的固体中,蛋白质的构象稳定性有一个临界非零含水量,因此,一些中间程度的含水量对于稳定性来说是非常适合的。虽然对于这种假设的直接实验证据比较缺乏,但是一些体系在高度干燥时,稳定性确实有所下降。流感病毒在水分含量不足 1.7% 时,明显变得不稳定<sup>[55]</sup>。目前,还不确定这种现象和蛋白质处方的直接关系。高温时无辅料的组织胞浆活化剂在低水分时的聚集会更快<sup>[56]</sup>。有记载表明,无辅料的人生长激素储藏在 25°C 的高度干燥的境况下有时会聚集得更快<sup>[19]</sup>。

### 3.3 影响干燥速率的因素

在二次干燥时,水的去除牵涉到水在玻璃态中的扩散、固-气界面的蒸发,以及在干燥物的孔隙结构中的流动。在二次干燥的初期,水分含量高,虽然产品相对温度较低,但干燥速率较快<sup>[40]</sup>。图 10 表示初始水分为 7% 的样品等温下二次干燥的动力学。甘露醇是晶体,聚维酮和拉氧头孢是 100% 的无定形。在试验初期,聚维酮和拉氧头孢的玻璃转化温度远高于样品 18°C 的温度,水能从晶型固体(甘露醇)或玻璃化无定形固体(聚维酮和拉氧头孢)中除去。 $F$  代表达到平衡的分数,在该实验中,  $1 - F$  代表校正的含水量,代表在干燥中没有进展的值。虽然干燥的定量明显与样品有关,但在每种样品中,水分在起初的 1~2h 内急剧减少,随后的干燥速率会变得很慢。如果干燥速率与残留水分成比例,则是一级动力学。图 10 中的曲线将会是一条直线。一种基于恒定扩散系数和恒定面积的简单的扩散模型也可以预示半对数的线性干燥曲线<sup>[40]</sup>。曲线很明显不是直线。残留水分似乎保持在一个平台值,各种样品有所差异。对于甘露醇,残留水分的平台值非常低 ( $< 0.1\%$ ),代表甘露醇晶体中的结合水。对于无定形样品聚维酮和拉氧头孢,平台值相当高,聚维酮约为 1%,拉氧头孢约为 3% (大部分水为结合水)。但是,基于平衡水解吸附等温线和测量到的干箱体水分压的计算数据表明,6 小时末

残留水分远高于平衡水含量<sup>[40]</sup>。因此残留水分并不是热力学意义上的结合,而是动力学捕获,这一结果的产生至少是因为随着较小、干燥较快的固体粒子变干,解吸附水分的有效面积减小的缘故<sup>[40]</sup>。对于给定的产品,当干燥温度增加时,水的平台值会减少,同样,当固体的比表面积增加时,水的平台值也会减少,但是其对于干燥块的厚度并不是很敏感<sup>[40]</sup>。

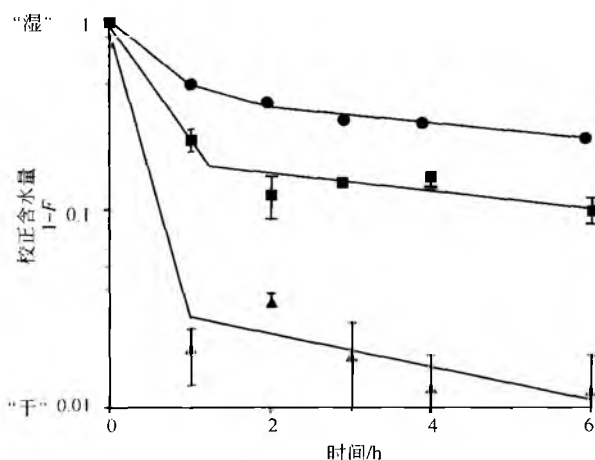


图 10 二次干燥的动力学例子。▲甘露醇（结晶）；■聚维酮；●拉氧头孢二钠（无定形）。所有的固体均是 5% 的水溶液灌装深度 1cm 后冻干，再水化至含水量约 7%。F 值为达到平衡的分数，相当于近零的含水量。二次干燥条件是：产品温度 = 18℃，箱体压力 = 200mtorr<sup>[40]</sup>

通常在二次干燥时箱体压力控制得非常低,传统的冷冻干燥认为低压可以加速二次干燥的进程。但是,我们发现二次干燥的速度对箱体压力并不敏感<sup>[40]</sup>,至少在 0~0.2torr 的范围内是如此。这种经验性的发现与无定形固体干燥时速率限制的质量转移过程是在固体中的扩散或是在固-气界面的蒸发(很可能是固-气界面的蒸发)这一结论相一致<sup>[40]</sup>。在二次干燥时使用低压会使样品容易受到来自胶塞的或其他来源的不纯气体的污染<sup>[50]</sup>。很明显二次干燥时,应该使用相对高的箱体压力(0.1~0.2torr)。当然,应该避免极高的箱体压力(约 1torr)。在很高的箱体压力下,水蒸气从孔隙结构中的流动速率会受到限制,从而减慢了干燥速率。

### 3.4 储藏过程中水分的变化

通常当使用很好的二次干燥工艺将残留水分减少到极低的水平,会发现储藏期间水分增加。虽然水分可能从周围环境通过胶塞传递,但是水分的增加与胶塞释放的水分最有关系。图 11 是 25mg 的冻干乳糖中水分含量随时间变化图,对这种现象进行了说明。这里使用的是灰色的丁基胶塞,并且事先进行了蒸汽灭菌,1h 的抽真空以除去多余的水分。图中标明在 5℃、25℃ 和 40℃ 的储存条件下的试验结果,光滑的曲线表明很好地拟合理化模型<sup>[57]</sup>。至少在 40℃ 和 25℃ 的储存下,水分急剧增加了 1%,然后达到平

台值 4.3%,说明已经达到平衡。也就是,达到 4.3% 的水分时,乳糖中水的活性和胶塞中水的活性相当,质量转移达到平衡。在其他一些研究中,起初故意制备高含水量的样品在储藏过程中水分会有所降低。简而言之,产品的水分与胶塞中的水分存在一个平衡,它可以增加干燥品中的水分或减少湿品中的水分。平衡时水含量的峰值与储藏温度似乎无关。40℃ 和 25℃ 时的平衡值相等,5℃ 时的平衡峰值也接近 4.3%。但是达到平衡的速率与温度紧密相关。平衡时的含水量也与胶塞的处理过程密切相关。蒸汽灭菌后对胶塞进行 8h 的真空干燥,储藏时水分的增加量很小。固体质量越大,平衡时水的含量越低,而对于吸湿性的样品,平衡水量就越高<sup>[57]</sup>。

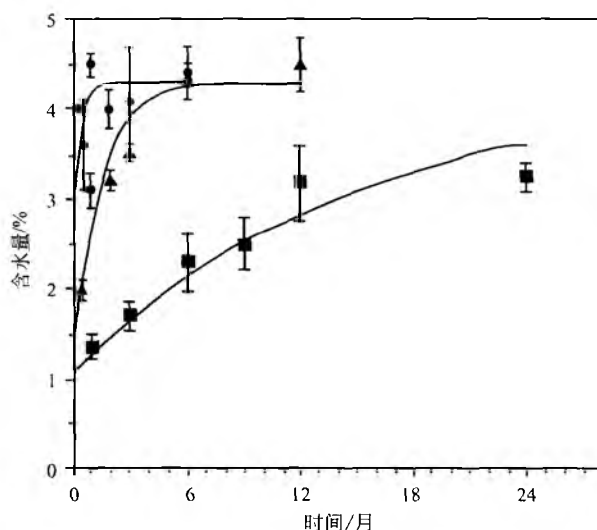


图 11 水从胶塞转移至 25mg 冻干乳糖的动力学。胶塞采用 13mm 的 West1816 灰色丁基胶塞,蒸汽灭菌后干燥 1h。  
●40℃; ▲25℃; ■5℃<sup>[57]</sup>

胶塞和产品的湿气交换对稳定性有着重要的影响。胶塞吸附的湿气可能会使含水量过高,导致玻璃化转变温度低于储存温度,引起结构塌陷和稳定性下降。此外,在含水量较窄的范围内,由于玻璃化转变温度常常显著地改变,不稳定性的开始可能会很突然。通过充分高温真空干燥蒸汽灭菌后的胶塞,调控湿气交换。更好的解决方法是采用不易释放水的橡胶配方。现在有数家供应商提供这样的胶塞配方。

## 处方与稳定性

### 1. 辅料的作用

除了主药或活性成分外,大多数冻干产品还有其他一些组分,这些添加的组分称为辅料,它们起到一种特殊的作用,通常与制备工艺或稳定性有关,也可以组成冻干固体的主要部分。

对于一些产品,每瓶的主药含量相当少。甘露醇和甘

## L

氨酸等填充剂就可以赋予产品优雅的外观并为块状物提供足够的机械强度,避免产品的吹出。当对很稀的样品进行冷冻干燥时,一次干燥时水蒸气流动产生的力,足以破坏块状结构,并且将部分产品带出瓶外。吹出通常只是发生在总固体在溶液中的比例相当小(1%或更小)的情况下,因而对于低剂量的药物,填充剂是非常关键的处方组分。

那些可以提高塌陷温度的辅料可以作为塌陷温度的改性剂进行更有效的冻干,避免发生塌陷。这些物质也可以作为填充剂或稳定剂。右旋糖酐( $T_c = -10^\circ\text{C}$ )、羟乙基淀粉( $T_c = -10^\circ\text{C}$ )、聚蔗糖( $T_c = -20^\circ\text{C}$ )、明胶( $T_c = -8^\circ\text{C}$ )都是实例。虽然这些材料通常不用在注射给药的处方中,但是右旋糖酐和羟乙基淀粉大剂量用于静注治疗,因此可以作为辅料。通常,混合物的塌陷温度总是处于各个组分的塌陷温度之间<sup>[58]</sup>,但是候选处方的塌陷温度并不能精准地预测。

通常可以使用结晶性组分来避免宏观的塌陷。加入相对比例较高的可结晶组分(加入量超过总固体的50%或者更多比较理想),可以形成晶型骨架。对这样一种配方进行冻干,会有微观的或部分塌陷(无定形相的完全塌陷),由于晶体组分,还是能够维持块状结构。因此,样品可以同时保持较好的外观和复溶时间,而且样品易于干燥到低水分残留状态。如果含有蛋白质的无定形相的塌陷导致降解,则用这种方法避免塌陷是行不通的。甘氨酸和甘露醇通常作为晶型骨架的组分。这些辅料的作用实际上是填充剂的另一特殊用途。

尤其是对于蛋白质,通过加入辅料防止发生降解的。例如,在诊断产品时,总加入冻干保护剂、抗氧化剂、非离子表面活性剂、金属离子螯合剂和其他一些蛋白质如牛血清白蛋白。在许多情况下,稳定剂也可以用作填充剂。甘氨酸、甘露醇、蔗糖以及乳糖是使用最为普遍的稳定剂。但是,乳糖是还原糖,通常会与蛋白质反应,其使用是有问题的。甘露醇和甘氨酸都趋向于结晶,因此它们单独用

作稳定剂是比较差的选择。糖类,尤其是蔗糖,通常是有效的冻干保护剂,并能提高储存稳定性。

通常加入缓冲盐来调节pH,对含有缓冲盐的样品必须小心地进行冷冻干燥。正如前面提及的,在冷冻时酸性或碱性的缓冲组分的结晶都会引起一定的pH漂移,因此在非缓冲系统中,会引起pH更大程度的变化。

人体使用的产品有时在处方中加入氯化钠或甘油来使复溶的样品等渗。通常对于静脉注射药物并不需要,但对于减轻皮下和肌肉注射时的疼痛却很重要。一般来说,尤其对于蛋白质,等渗的调节最好是在稀释剂中包含一些张力调节剂,而不是在冻干产品中。氯化钠和甘油可以较大程度上降低塌陷温度,而氯化钠在冻干时会引起蛋白质的聚集。

对于多剂量产品,通过使用防腐剂防止产品使用时长菌。经常使用尼泊金甲酯和尼泊金乙酯的混合物以及苯酚和甲酚的混合物。防腐剂的使用剂量相当低(溶液中只有 $\leq 0.1\%$ ),通常不会改变处方的塌陷性质。由于不需要在冻干时添加防腐剂,为了使冻干处方尽可能简单,最好将防腐剂加入复溶的稀释剂中。

少量的表面活性剂(约0.05%)的加入有几个目的。对于不易润湿的药物,表面活性剂有助于其复溶;表面活性剂加入到低剂量的产品中,可以使由于表面吸附引起的损失减至最少;在低剂量的蛋白质样品中,表面活性剂也可以成为有效的稳定剂。

## 2. 处方和工艺的关系

特别是对于冻干产品,处方与制备工艺是相关的。处方的性质,尤其是塌陷温度,会对工艺的难易有相当大的影响。有效的工艺是在较高的样品温度下操用的。但是,温度不能太高,否则会影响产品的质量。由于玻璃化转变温度和无定形相的化学组成相关, $T_g'$ 与塌陷温度、处方密切相关。普通辅料系统的塌陷温度范围为 $-50 \sim -10^\circ\text{C}$ (表2)。

表2 部分辅料的塌陷温度  $T_c$  和玻璃化转变温度  $T_g'$ <sup>(1)</sup>

材料	$T_g' / ^\circ\text{C}$	文献	$T_c / ^\circ\text{C}$	文献
聚合物				
BSA	-11	[46]		
右旋糖酐	-10	[46, 59]	-10	[60, 61]
Ficoll	-19	[59]	-20	[45]
明胶	-9	[59]	-8	[45]
PVP(40 000)	-20	[59]	-23	[45]
多糖和多元醇				
葡萄糖	-44	[59]		
羟丙基 $\beta$ -环糊精			-18	[60]
乳糖	-28	[46, 59]	-31	[60, 61]
甘露醇	-35, -28	[46, 59]		
棉籽糖	-27	[62]	-26	[45]
山梨醇	-46	[59]	-45	[45]
蔗糖	-32, -35	[46, 63]	-34, -32	[60, 61]

续表

材料	$T_g'/^{\circ}\text{C}$	文献	$T_c/^{\circ}\text{C}$	文献
海藻糖	-27, -29	[46, 59]	-34	[60]
氨基酸				
$\beta$ -丙氨酸	-65	[46]		
甘氨酸	(-62)	[64]		
组氨酸	-33	[46]		
盐和缓冲组分				
乙酸, 钾	-76	[46]		
乙酸, 钠	-64	[46]		
$\text{CaCl}_2$	-95	[46]		
枸橼酸	-54	[46]		
枸橼酸, 钾	-62	[46]		
枸橼酸, 钠	-41	[46]		
HEPES	-63	[46]		
$\text{NaHCO}_3$	-52	[46]		
磷酸, $\text{KH}_2\text{PO}_4$	-55	[46]		
磷酸, $\text{K}_2\text{HPO}_4$	-65	[46]		
磷酸, $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	-45	[46]		
Tris 碱	-51	[46]		
Tris 盐酸	-65	[46]		
Tris 乙酸	-54	[46]		
$\text{ZnCl}_2$	-88	[46]		

1) 塌陷温度通过冻干显微镜法得到,  $T_g'$  通过 DSC 法以  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的升温速率测定, 以玻璃化区域的中点表示。当数据与相对分子质量有关时, 给出聚合物的相对分子质量。当实验室间存在明显的区别, 给出了两个值。括号中的值为无定形混合物外推至纯化合物时的估算值。

塌陷温度取决于无定形相的组成, 一种或几种成分的结晶会显著改变塌陷温度。因而引起结晶的工艺变动会改变处方的物理状态。例如, 人生长激素中加入甘氨酸和甘露醇, 其质量比为 1:1:5, 如果冻结速率很快, 就可以完全形成无定形系统, 此时塌陷温度为  $-24^{\circ}\text{C}$ ; 较慢的冷冻使大多数甘露醇结晶, 导致塌陷温度要大于  $-5^{\circ}\text{C}$  [18]。另一个例子是甘氨酸-蔗糖系统, 甘氨酸的用量要超过蔗糖 [64~68]。如果冻结很快, 甘氨酸可以保持无定形, 甘氨酸-蔗糖冷冻浓缩物的塌陷温度很低 (大致在  $-45^{\circ}\text{C}$ , 具体与确切组成有关); 如果甘氨酸也结晶, 那么玻璃化转变温度基本上相当于蔗糖冷冻浓缩物的玻璃化转变温度 (大约  $-34^{\circ}\text{C}$ )。进一步说, 由于晶体甘氨酸保持着这种结构, 超过了  $T_g'$ , 不会导致宏观的塌陷。当系统温度超过  $-15^{\circ}\text{C}$  时, 冷冻干燥也可以没有明显的塌陷。这样, 结晶可以将几乎不能冷冻干燥的处方转化成商业化可操作的处方, 使冷冻干燥变得相对容易。如果处方中同时包括甘氨酸和蔗糖, 很明显甘氨酸的量相对蔗糖要么很高, 要么很低。如果甘氨酸在蔗糖相中的浓度很低, 那么甘氨酸就不会晶体化, 但是这种情况下对  $T_g'$  的影响最小; 如果甘氨酸的浓度很高, 它可能完全晶体化, 因此减少了甘氨酸在无定形相中的浓度, 使处方的  $T_g'$  最大化。

多组分无定形系统的玻璃化转变温度可以从单一组分的玻璃化转变温度来估计 [69]。最简单的表达式通常称为 Fox 方程, 为

$$\frac{1}{T_g} = \frac{w_1}{T_{g1}} + \frac{w_2}{T_{g2}} \quad (2)$$

式中:  $w_i$  为某组分  $i$  的质量分数;  $T_{gi}$  是纯组分  $i$  的玻璃化转变温度。式 (2) 适用于超过 2 种组分的系统, 第二个溶质组分对处方的影响可以用式 (1) 计算, 如果式 (2) 中的  $T_{gi}$  与亲水性组分  $i$  的  $T_g'$  相同,  $w_i$  是这种溶质在总溶质中的质量分数。虽然等式 (2) 并不严格适用于包含 2 种 (或更多) 溶质成分和水的冷冻浓缩物系统, 但实际运用中, 这种从  $T_g'$  数据进行的计算已经足够正确了。例如, 水性蔗糖系统中, 甘氨酸对于  $T_g'$  的影响与式 (2) 完全一致 [65]。

### 3. 填充剂

#### 3.1 一般因素

填充剂应该是惰性的物质, 是用来简单充填以增加产品块状物的密度, 同时可以改进产品外观, 防止喷瓶现象。但是其并不用于提高药物的物理及化学稳定性。无定形辅料可用作填充剂, 但是大多数无定形辅料的塌陷温度较低,

## L

需要低干燥温度和长时间的干燥过程。例如,乳糖可用作填充剂,但是较低的塌陷温度( $-31^{\circ}\text{C}$ )需要长时间的干燥过程。并且乳糖是还原糖,会与氨基基团发生化学反应,所以它不能用于很多药物。虽然作为冻干辅料运用不广泛,但是羟乙基淀粉是惰性无定形添加剂的一种,其塌陷温度高,可以用作填充剂而不需要很长的过程。羟乙基淀粉在干燥时有可能发生块状物的收缩或开裂,因此,相对于常用的晶体填充剂它所提供的外观就要差一些。由于山梨糖醇是甘露醇的异构体,有人期望山梨糖醇可作为一种填充剂。山梨糖醇在冻干过程中不易结晶,无定形山梨糖醇的塌陷温度在 $-45^{\circ}\text{C}$ 左右(表2),因此冻干处方中应避免多加。人血清白蛋白或者在诊断产品中的牛血清白蛋白可用作填充剂或稳定剂。但是,对于从人体中分离得到的辅料,人血清白蛋白的使用应该受到质疑。甘露醇是使用最普遍的填充剂。基于含甘露醇的处方是比较好的,复溶快,除了破瓶的潜在可能<sup>[26,70,71]</sup>,通常冷冻干燥过程都是比较容易的,不会有什么产品缺陷。破瓶可以通过减小灌装厚度、降低甘露醇浓度、减慢冷冻速率、并在结晶完全以前保持在不低于 $-25^{\circ}\text{C}$ ,使其可能性降到最小。甘氨酸作为填充剂也是不错的。甘氨酸结晶容易、形成的样品美观、复溶快、并不会导致破瓶。但是,甘氨酸所形成的块要比甘露醇形成的块脆弱得多,通常认为其较甘露醇形成的块欠美观。

### 3.2 晶体填充剂中的多晶型现象

在冷冻干燥中,多晶型现象的重要性通常取决于所给的成分是晶型还是无定形固体。晶体多晶型是次要的。但是,应该注意到,甘露醇和甘氨酸在冷冻中都表现出晶体的多晶型现象<sup>[72-75]</sup>。仅有的严重的晶体多晶型问题是形成甘露醇的水合物<sup>[73,75]</sup>。在某些条件下,不能完全理解,在二次干燥时,甘露醇形成水合物不容易失去水形成脱水物,此时二次干燥的温度需超过 $50^{\circ}\text{C}$ 才能将其转化成脱水物。因此,含有甘露醇的样品在不高的二次干燥温度下会有较高的残留水分。如果这些残留水分位于水合物的晶格中,高残留水分仅仅是一个新奇的事物。但是,在储藏过程中,尤其是温度升高时,水合物会缓慢退溶,因而会将水分释放至无定形药物相中,这种现象会危及储存的稳定性,尤其是在稳定性的加速试验中。

### 3.3 填充剂结晶的条件

对于填充剂的结晶,很多因素是比较关键的。首先,填充剂的性质很重要,除非所用的填充剂在周围温度下很容易从水溶液中转化成晶体,否则在冷冻时形成晶体不太可能。虽然甘露醇和甘氨酸在冷冻时都比较容易结晶,但是还有许多其他溶质也很容易结晶,至少可作为注射药物可以接收的辅料。甘露醇和甘氨酸只是最常用的填充剂。在高浓度的可结晶溶质的溶液中,结晶易形成是非常重要的,填充剂必须是得到可靠结晶的主要溶质成分。其他溶质的浓度如果太高,尤其是那些一直保持无定形的物质,

通常会妨碍或阻止填充剂的结晶。作为普遍的处方规则,可结晶的填充剂在整个处方中的质量比,应该是其他溶质成分总和的3倍以上。并且,固体量增加时会增加干燥层对水蒸气的流动阻力,因此延长了一次干燥的时间,所以我们要尽可能避免总固体量大于 $100\text{mg/mL}$ 。坚持这些原则是建议,当药物浓度超过 $25\text{mg/mL}$ 时,不要使用填充剂。因为在药物浓度超过 $25\text{mg/mL}$ 时,为了防止喷瓶,通常是不需要填充剂的。

## 4. 表面活性剂

表面活性剂通常是用来减少低剂量药物的表面吸附,改善其润湿和复溶效果,并在冷冻过程中稳定蛋白质。在几乎所有的应用中,都是使用非离子表面活性剂,最普遍的是聚山梨酯-80。但是,需要注意聚山梨酯-80的普遍使用是由于其使用的广泛性历史以及注册机构更容易接受,而不是在给定的应用中性能优越。实际操作中,表面活性剂的浓度很低,一般在 $0.01\% \sim 0.1\%$  ( $w/v$ )。

蛋白质和表面活性剂通常会吸附在滤器、溶液制备装置以及容器表面,因此会产生药物的损失。这种损失通常只有产生在药物浓度极低的情况下(总药物损失在药物溶液中占有相当的比例)才有实际意义。加入低浓度的表面活性剂通常会减少药物的吸附,因为表面活性剂会优先吸附在表面上。对于蛋白质,表面吸附很复杂,而且可能造成损害。很多蛋白质吸附在界面上,尤其是气-水界面,引起构象的变化。从界面上解吸附,和其他构象改变的分子进行再折叠或组合,会导致不可逆的聚集。

当振摇水溶液时,人生长激素会广泛聚集,但是这种聚集在加入聚山梨酯-20的情况下会消失<sup>[76]</sup>。需要注意,虽然也研究过其他表面活性剂(包括聚山梨酯-80),但是聚山梨酯-20是最有效的稳定剂。在这项研究中,所有表面活性剂的浓度都要高于临界胶束浓度,聚集的减少率与吐温20和人生长激素的摩尔比呈线性,直到超过2.0,这种线性才消失。这种线性给我们提示了稳定化的机制。由于气-水界面对表面活性剂的吸附取决于表面活性剂单体的浓度,而其单体浓度通常在临界胶束浓度之上,所以在临界胶束浓度上的各种浓度,表面活性剂气-水界面吸附的稳定机理都会产生一个大致恒定的稳定效果。数据和推测的结果并不一致。但是,已知聚山梨酯-20和人生长激素结合的化学计量是 $2.5 \sim 4$ <sup>[77]</sup>。这样,表面活性剂与蛋白质结合,提高了在振摇时的稳定性似乎就比较合理<sup>[77]</sup>。

冷冻融解时血红素的聚集可以通过将聚山梨酯-80的浓度从 $0.0125\%$ 增加到 $0.1\%$ 来消除<sup>[78]</sup>。没有加聚山梨酯-80的情况下,在5次冷冻-融解循环后,会形成许多粒子,比冷冻到 $-20^{\circ}\text{C}$ 的粒子多一个数量级,是冷冻到 $-80^{\circ}\text{C}$ 的粒子的5倍。但是,使用聚山梨酯-80在两个冷冻温度均能减少颗粒的产生,而且冷冻-融解前后的粒子水平没有很大变化。试图证明血红素与表面活性剂结合的不成功,表明稳定机制并不涉及与蛋白质的结合。但有人提出稳定作用涉及界面处的表面活性剂的吸附,因此阻止了界面对蛋白质

的吸附。

虽然我们不是总是期望采用上面例子中的方法,加入表面活性剂来消除蛋白质的聚集,但是当蛋白质聚集在冷冻-融解或溶液处理过程中成为问题时,我们需要谨慎测试表面活性剂的效果。

## 5. 稳定剂

### 5.1 稳定剂的类型

稳定剂只是一个处方成分,没有生理活性,加入处方只是为了保持药物的物理或化学稳定性。就像在前面小节所讨论到的,表面活性剂也可以有稳定作用,pH的控制也很关键,可以考虑用缓冲盐作为稳定剂。但是,本节要讨论的是表面活性剂和缓冲盐以外的稳定剂。而且,大多数文献涉及蛋白质的稳定问题,本节的讨论也集中于蛋白质,但大多数稳定原则也同样适用于小分子。

### 5.2 使氧化作用最小

虽然氧化在制剂系统中是很普遍的降解途径,但我们希望冷冻干燥中的氧化问题能很容易地在制备过程中通过消除氧气来解决,也就是说,因为样品是在真空情况下干燥并在真空或充有氮气环境中进行封瓶,不会有氧气存在来进行氧化反应。人生长激素的储存稳定性在氮气中封口比在氧气中封口确实会有很大改善<sup>[19]</sup>。但是,氮气中封口的样品中也检测到明显的氧气。实际上,从制备溶液中完全消除氧气是不可能的,一些氧气会在冷冻后留在无定形溶质相中,在干燥时不容易完全除去。而且,由于许多原因,包括大气的扩散,瓶顶空的氧气含量会很容易达到1%。从化学计量的观点来看,即使是1%的氧气存在于瓶顶空也足够产生实质上的降解了,尤其是对于高相对分子质量的药物。例如,5mg剂量的人生长激素(分子质量22.5kDa)置于5mL的瓶中,瓶顶端1%的氧气就代表超过10倍的氧气来完成蛋白质的氧化。

由于基态的氧气分子的活性不显著,所以氧气的存在并不是快速氧化的唯一条件。活化分子需要光(光活化为单线态氧, $^1\text{O}_2$ )、还原剂的存在、痕量的过渡金属离子(铁或铜),这些都可以使氧分子变成更加活跃的氧化剂,如过氧自由基( $\text{O}_2 \cdot^-$ )或羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )以及过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )<sup>[79]</sup>。过渡金属离子通常存在于辅料中,在不锈钢设备中进行制备会导致严重的铁污染。过渡金属离子作为催化剂,只需要痕量就可以发挥作用。还原剂用来将分子态的氧转化为活性氧,所以对于明显的药物降解需要高浓度的还原剂。但是,高浓度的还原剂就表示药物和辅料的纯度受到污染。在5mg人生长激素的例子中,低相对分子质量( $M$ 约100)的还原剂在0.1%的水平时,会导致超过10%的蛋白质发生氧化。还原剂也可能来源于为了抑制氧化而加入的抗氧化剂如维生素C。维生素C在某些情况下可作为抗氧化剂,但是,在过渡铁或铜存在的情况下它可以作为有效的氧化强化剂将分子氧还原成活化的氧<sup>[79,80]</sup>。最终,

氧化强化剂为聚乙二醇和非离子表面活性剂中的常见污染物,可能会成为氧化剂。因此,如果氧化是可能的降解途径,这些使蛋白质构象稳定的物质很有可能是化学不稳定剂。

大量的氨基酸残基易于发生氧化。金属催化的甲硫氨酸最普遍,会形成亚酰甲硫氨酸和其他产物;半胱氨酸的氧化会形成非天然分子内和分子间的二硫键;组氨酸的残基在金属催化下也易于氧化;光催化氧化下,色氨酸和酪氨酸会发生降解<sup>[79]</sup>。即使对于特定的反应如甲硫氨酸的氧化,活性氧和反应产物随着试验条件的改变而变化,反应机理仍然很复杂<sup>[79,80]</sup>,因此,保持稳定就很困难。溶液中的氧含量在工艺过程中应降至最低限度,样品应在冻干机内用真空或顶空用氮气封闭。由于很少量的金属离子、氧化强化剂和过氧化物的副作用,药物与辅料需要有稳定的性质。处方的pH以及缓冲盐种类也很重要<sup>[80]</sup>。最适条件随着应用的条件不同而改变,一些经验上的实验筛选对于优化一个处方也是必要的。

也可以加入特殊的化学成分来减缓氧化。加入经典的抗氧化剂溶液必须谨慎,因为抗氧化剂在金属催化的氧分子转化成活性氧的过程中可以作为氧化强化剂。而且,加入金属螯合剂(如EDTA)并不能总是延缓氧化。事实上,过渡金属可以加速氧化过程<sup>[80]</sup>。对于大多数金属催化氧化,氧化机理是位点特异性的,还原态金属与蛋白质上的组氨酸结合,在此位点将氧转化成活化态,随后将附近的位点氧化<sup>[81]</sup>。例如与EDTA螯合会促进氧化,假设EDTA与金属的螯合物与蛋白质更紧密结合,因此在非活性位点旁对于产生活性氧更有效<sup>[81]</sup>。在某些情况下EDTA的存在并不能减缓氧化<sup>[82]</sup>,因此,在筛选螯合剂以便影响氧化时要慎重。清除活性氧、羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )和单线态氧 $^1\text{O}_2$ 的试剂会减缓氧化过程<sup>[79,83]</sup>,结果高度取决于系统。例如,对于含甲硫氨酸的多肽的铁催化氧化,硫脲对于维生素C和二硫苏糖醇氧化强化剂系统都很有效,但是甘露醇只对二硫苏糖醇氧化强化剂系统有效<sup>[83]</sup>。

### 5.3 冷冻过程中的稳定性

对于蛋白质,稳定性有两种不同的意思。制剂稳定性是指蛋白质在加工、分发、使用过程中没有一级结构、构象和聚集状态的不可逆变化。我们将制剂不稳定称之为降解。但是,通常说的蛋白质稳定性是用来描述天然和展开构象之间的平衡位置。如果一个蛋白质处方需要高浓度的化学变性剂,或高温,会使天然和展开构象之间的平衡向展开构象方向偏移,蛋白质认为是稳定的。这种稳定性称为“热力学稳定性”。热力学不稳定性涉及物理变化,和热力学的状态改变有些相似。制剂不稳定性也许纯粹是物理变化的结果(非共价聚集),但是也会涉及一级结构的变化,或者换句话说,化学降解。当然,化学转化(如氧化和脱氨)是聚集成不可溶的沉淀物。

制剂稳定性和热力学稳定性并没有直接关联。例如,





## L

蛋白质在冻干时会表现出热力学不稳定性并且呈展开状态,但是如果在储存或复溶时不发生不可逆反应,复溶的蛋白质在几秒钟内会完全折叠,因此表现出良好的制剂稳定性。通过数年储存过程中的脱氨基或氧化等化学反应后,保持天然状态、热力学稳定的蛋白质仍然会降解,尤其当活性的水分残留在蛋白质表面时。但是热力学不稳定也可能是降解的前兆。当然,非折叠状态的蛋白质可以在溶液环境中掩蔽和保护甲硫氨酸和天冬酰胺酸残基,并使这些残基更具活性。而且,不可逆聚集引起的降解被认为是通过中间体构象的展开或部分展开造成的<sup>[84]</sup>。

很多蛋白质在经过冷冻干燥后并不发生降解或降解得很少,而某些蛋白质有明显的降解或生产中失去活性。冻干过程中的降解可能发生在冷冻阶段,也可能发生在干燥阶段,所以确定降解发生在什么时候是有必要的。要测定冷冻过程中的降解,需要对冷冻-融解的稳定性进行研究,并粗略估计干燥过程中的稳定性和冷冻-干燥时的稳定性,并与冷冻-融解稳定性比较。基本的假设是,融解时的降解与复溶时的降解有可比性,因此,冻干-复溶的产品和冻干-溶解的产品在活性间的差异是衡量干燥时是否失去活性的标志。这个假设对于快速融解的过程可能是个合理的近似值。一项重要的观察是某些辅料在冷冻和干燥时都可起到稳定作用(称为冻干保护剂),而一些只能在冷冻时起到保护作用(称为冷冻保护剂)<sup>[41,85,86]</sup>。

如果降解只发生在冷冻阶段并且在冷冻工艺的实际变化中不能消除该问题,那就很明显地需要在系统中加入冷冻保护剂。但是,在冷冻时会产生很多不同的压力,对冷冻保护剂的合适选择就不总是很明显。倘若可获得关于降解途径的一些信息,稳定化的策略可能十分有针对性。例如,如果怀疑氧化是主要的途径,就必须遵照使氧化减小到最低的建议;如果聚集是主要的问题,那么就on考虑使用非离子表面活性剂;如果缓冲盐结晶引起pH的变化,需要在冷冻时将pH的变化减到最小。选用其他缓冲体系或使用极少量的缓冲盐可能会消除pH的变化并解决稳定性问题。此外,加入辅料(如蔗糖或海藻糖),它们可以影响缓冲盐的结晶,从而阻止冷冻过程中pH的过度漂移<sup>[41,85,86]</sup>。

除了所提到的有针对性的稳定策略,我们也可以采用通用的策略,通过加入提高蛋白质热力学稳定性的组分来实现。也就是,加入可以提高变性自由能的组分,会改变不同冷冻压力引起变性自由能的降低的效果。冷冻过程中的净结果是,天然构象为主导构象,降解减少。发现很多溶质类型(如氨基酸、糖类、多元醇、聚乙二醇和其他一些类别)在冷冻时不仅能增加热力学稳定性还能增加制剂稳定性<sup>[85,86]</sup>。因为这些溶质以很低的浓度存在于蛋白质表面附近,被称为排斥性溶质。这种排斥的热力学结果就是蛋白质优先水合,蛋白质的化学势增加。有人认为非折叠状态增加的化学势要比天然状态增加的多,因此,增加了变性的自由能稳定了天然构象<sup>[85,86]</sup>。虽然因溶质排斥引起的化学势增加与作为冷冻保护剂的溶质的效果并不总是呈

现量上的相关,但还是需要谨慎测试这些制剂上可接受的排斥性溶质(如甘氨酸、甘露醇、二糖和聚乙二醇)作为潜在的冷冻保护剂,以免冷冻不稳定性中涉及构象的不稳定。显然,如果氧化是问题所在,则聚乙二醇不是很好的选择。对于冷冻保护,溶液中防冻剂的浓度是关键浓度变量,与蛋白质在处方中的浓度无关。对于非聚合物排斥溶质,相对高的浓度(0.2~0.5mol/L)通常可以有效进行冷冻保护<sup>[85]</sup>。

#### 5.4 干燥过程中的稳定性

除了冷冻过程中形成的压力外,干燥时因要完全除去水又施加了额外的压力。水替代物假设是基于当蛋白质和水之间的氢键在干燥最后阶段失去时发生显著的热力学不稳定的理论。用水替代物作为冻干保护剂,使得蛋白质和水替代物之间发生氢键的结合作用,从热力学上稳定了其天然构象并保留了活性。水替代物能像水一样与蛋白质表面以氢键结合,并通过热力学机制实现稳定作用,即保持展开的很高的自由能,使所有的蛋白质均处在天然构象状态。另外,必须认识到大部分观察结果也可以用纯动力学稳定机制加以合理解释。通常干燥在足够低的温度下进行,蛋白质处于玻璃态,分子的移动很受限制。有人认为好的稳定剂能有效地将蛋白质的动力学转化为玻璃态的动力学,因而即使蛋白质是热力学不稳定的,蛋白质中的移动也太慢,使干燥过程中蛋白质不能展开。从而蛋白质的构象得以稳定,而不管展开的自由能多大。

非还原的双糖和三糖(如蔗糖、海藻糖或棉籽糖)通常是很好的干燥稳定剂<sup>[41,85,86]</sup>,作为好的水替代物,通过氢键也能形成玻璃态,能结合蛋白质的动力学为骨架动力学。在酸性pH环境下,特别是pH低于5时,棉子糖比蔗糖和海藻糖要多效得多。蔗糖和海藻糖在固体水解成还原糖的速度要比棉籽糖快得多,通过还原糖引发降解反应<sup>[88]</sup>。干燥稳定时主要的浓度变量是多糖与蛋白质的质量比(或摩尔比),质量比通常在1:1和10:1之间。原则是确保蛋白质处于稳定剂的基质中。对于稀的蛋白质体系,在稳定剂浓度很低时也能得到好的稳定效果。有人希望采用甘氨酸或甘露醇等即作为填充剂又作为稳定剂,该策略能实现好的冻干外观和稳定性,而不需要减慢一次干燥的高浓度溶质。

#### 5.5 储存过程中的稳定性

虽然储存时的不稳定性压力与干燥时的压力相同,但是储藏的时间要远远长于冻干的时间。而且,冻干产品通常存放在其玻璃化转变温度以下,这就意味着分子流动性受到很大限制<sup>[41,85,86]</sup>。正因为这些差异,所以储藏时的主要降解途径会与冻干时的降解途径有所不同。例如,在储藏时,天门冬氨酸残基的脱氨化是很普遍的降解途径,而这在制备过程中却很少发现。这种现象并不意味着脱氨化在干燥玻璃态固体中比溶液中快,这仅



仅是长期储藏的结果。由于要保证产品 2 年的稳定性,储藏稳定性确实会出现比制备过程中的稳定性更严重的问题。储藏过程中的降解可能是由于化学降解,例如氧化和天门冬氨酸的脱氨,以及聚集成非共价或共价聚合物<sup>[41,85,86]</sup>。聚集通常是指形成大量的不可溶聚合物,在溶液中出现沉淀。然而,储藏时出现的聚集程度的增加并不代表在固体状态出现双分子的聚合,也有可能是储存时发生的构象改变。构象改变的蛋白质的碎片聚集可能同时在复溶时发生,余下的部分会重新折叠成天然构象。由于聚集通常在溶液中测定,要确定其开始时间是不可能的。当聚集的量与复溶过程及稀释剂的组分有关时(有无表面活性剂),可以得出结论,至少有一部分非折叠状态蛋白质的聚集会发生在复溶阶段。

稳定策略集中在 3 个因素:①特定的化学需要;②固体的物理状态;③蛋白质的结构。根据降解的途径和机制,这些因素中任何一个都是至关重要的。当然,如果氧化是主要的降解途径,就需要注意系统的化学组成来保持稳定,包括如前面讨论到的杂质以及加入的稳定剂的效果。虽然 pH 在固体中没有实际意义,但是固体中的离子化程度确实反映出制备固体的溶液的 pH,溶液的 pH 可能是主要变量。干燥固体与水溶液之间的环境有极性差异,这意味着对于固体稳定性最适宜的 pH 与溶液的最适 pH 不同,有必要用固态筛选试验确定对于冻干固体稳定性精确的最适 pH。

系统的物理状态很明显也比较重要。我们制备冻干产品是为了增加物料相对于溶液状态的储存稳定性,假设固态时分子的流动性受到严格控制而趋于稳定。无定形固体(如玻璃)比相应的水溶液稳定性通常要高数个数量级,至少对于小分子是这样的,结晶药物比玻璃态要稳定得多<sup>[89]</sup>。蛋白质在冻干时不能形成晶体,唯一的固态就是玻璃态。形成玻璃态并不能保证足够的稳定性。纯的干燥蛋白质是玻璃态,对于一定温度下的长期储存,它们没有足够的稳定性,通常在处方中加入辅料来起到稳定作用。蛋白质和辅料的物理混合不能起到额外的稳定作用,所以稳定体系至少部分为无定形并与蛋白质在同一个相中<sup>[41,85,86]</sup>。另外,为了避免辅料与蛋白质之间的化学反应,辅料必须是惰性的。最好不要使用还原糖如乳糖来稳定蛋白质。例如,乳糖能稳定生长激素,使其不聚集,但在冻干固体储存时会迅速发生乳糖和人生长激素的加合<sup>[18]</sup>。

干燥也会去除水分,对于能发生水解反应的,在极低水分下,稳定性通常是最好的<sup>[41,85,86]</sup>。但是残留水分对于稳定性的作用远远比其可能作为一个反应物要复杂得多。残留水分主要对系统的物理状态有影响,增加残留水分的量会降低无定形系统的玻璃化转变温度。因此在特定的温度下使系统不呈现固态,结果在储存温度下使玻璃态转化成液体。图 12 表明了两种常用的稳定剂蔗糖和海藻糖的残留水分对玻璃化转变温度的作用<sup>[90]</sup>。两种情况下,少量的残留水分都会显著降低玻璃化转变温度,但是干燥的蔗糖比干燥的海藻糖的玻璃化转变温度要低得多,将蔗糖的玻

璃化转变温度改变至室温的含水量  $W_g$  (25℃) 很低。因此,在很难保持极低水分时,选择海藻糖要比蔗糖更好。

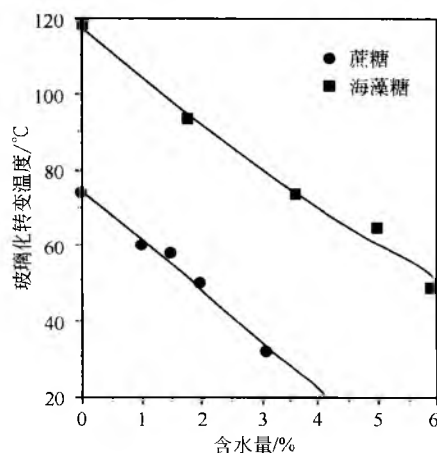


图 12 残留水分对蔗糖和海藻糖玻璃化转变温度的影响<sup>[90]</sup>

一般来说,当系统转变为液态时化学物理稳定性急剧降低<sup>[41,86,91,92]</sup>。在处方中含海藻糖的人生长激素的化学降解表明了这种现象<sup>[92]</sup>。含有海藻糖的处方用差热分析可以确定精确的玻璃化转变温度,含水量的增加会降低  $T_g$ 。当系统保持玻璃态时,化学降解的速率常数与含水量无关,但是至少对于 50℃ 的数据,当含水量的增加使系统的玻璃化转变温度降低到储存温度以下时,降解会急剧增加(图 13)。聚集速率也具有同样的现象<sup>[92]</sup>。但是,在玻璃状态时,稳定性对于含水量并不敏感,在玻璃化转变温度以下稳定性与  $T - T_g$  并不相关。在研究处方对人生长素稳定性的影响时,得出同样的结论。人生长素在不同处方中的化学和聚集稳定性在图 14 中进行了比较<sup>[92]</sup>。含有甘氨酸、甘露醇的处方中人生长激素-甘氨酸-甘露醇的质量比是 1 : 1 : 5,其中只有甘露醇是晶体。其他的成分 100% 是无定形的。羟乙基淀粉、木苏糖和海藻糖作为辅料与人生长激素的质量比为 1 : 1,而右旋糖酐在处方中与人生长激素的比例为 6 : 1。虽然在概念上辅料体系必须保持至少部分无定形来保证蛋白质的稳定性,但是很明显,保持无定形并不是稳定性的充分条件。具有右旋糖酐的处方比纯蛋白质更容易发生聚集。羟乙基淀粉对于纯蛋白质的稳定性有轻微改善,但是不能达到含有氨基乙酸-甘露醇的处方的效果,增加羟乙基淀粉的量至羟乙基淀粉-人生长激素比为 3 : 1,还是不能改善其稳定性<sup>[92]</sup>。含有来苏糖或海藻糖的处方都能比氨基乙酸-甘露醇的处方更能提供较好的稳定效果,而且海藻糖效果优于水苏糖。所有的体系在 40℃ 储存时都是玻璃态,对于那些可以测得其玻璃化转变温度的体系,很明显储存的环境温度远低于  $T_g$ ,而  $T_g$  和稳定性之间没有直接的联系。虽然我们可能推测玻璃态越趋向固体,会越稳定一些,但当储存温度与  $T_g$  之间的差异越大时,所得的数据与此项推测就不能保持一致性。将含有水苏糖和海藻糖的处方进行比较,它们与人生长激素的比例均为 1 : 1,水苏糖处方的  $T_g$  要高于海藻糖处方将近 20℃,但是海藻糖处方的稳定性要稍好于水

苏糖。这些观察以及一些相似的结果表明<sup>[92]</sup>，由于外观和稳定性的原因，当处方的  $T_g$  高于期望的最高储藏温度时， $T_g$  温度以下的稳定性并不与储藏温度与  $T_g$  之间的精确差异有直接关系。

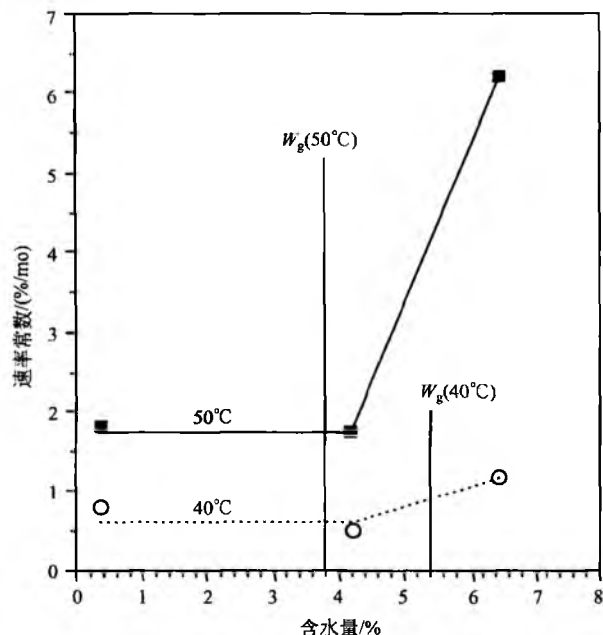


图 13 含海藻糖的人生长素冻干处方的化学降解在 40℃ 和 50℃ 时与含水量的关系。图中给出的为天冬酰胺脱氨基和甲硫氨酸氧化的表现一级速率常数（%/月）。处方为 15% 的人生长素中药物与海藻糖的质量比为 6:1，磷酸盐缓冲液 pH 为 7.4。含水量最高的样品在 40℃ 储存发生中等程度的塌陷，在 50℃ 储存发生严重塌陷。将玻璃化转变温度降至储存温度时的含水量标为  $W_g$ 。○40℃ 储存，■50℃ 储存<sup>[86]</sup>

对于在  $T_g$  温度以下缺乏稳定性与  $T_g$  的明确关系不是完全不可预测的。在  $T_g$  以下分子的流动性更慢，但是不会接近 0，除非远远低于  $T_g$ <sup>[41,86]</sup>。因此，玻璃态的动力学不仅取决于  $T_g$  值，而且也玻璃态的性质以及玻璃态的热史十分敏感<sup>[41,93]</sup>。即使玻璃态基质的主成分（如蔗糖）基本上呈现非流动状态（转移和转动可以忽视），小分子的流动性（如水的扩散）可能仍然是重要的因素。蛋白质上潜在的反应基团（如天冬氨酸侧链）可以充分进入过渡状态和反应<sup>[41]</sup>。因此，不仅基质本身呈现固态是必要的，而且对于固态稳定性来说基质流动性和蛋白质降解的临界流动性之间的有效耦合也是必要的。<sup>[41]</sup>。虽然不能完全了解有效耦合所需的分子特性，但是蛋白质与稳定剂之间的氢键似乎提供了一种耦合的机制<sup>[41,86]</sup>。因此，二糖和三糖是有效的稳定剂。

对于蛋白质，其结构也是关键的稳定性参数。目前普遍认为蛋白质在冻干过程中发生的显著的构象变化可以通过加入稳定剂来得到改善<sup>[41,85,86]</sup>。基本上不同的构象会有不同的稳定特性，天然构象是最稳定的构象<sup>[41,85,86]</sup>。通过傅立叶红外光谱的测量重组白细胞介素-2 的数据表现出储存稳定性与结构间显著的相关性<sup>[21]</sup>，越是天然的构象就越

稳定。同样，在冻干人生长激素处方中天然构象越多，储存时其对于聚集以及化学降解的变化就越稳定<sup>[92]</sup>。因此，在任何给定的处方中蛋白质的降解是在冷冻干燥过程中产生的蛋白质亚态的分布与其活性的函数，与天然结构越像的亚态越稳定。从这个观点看，良好的稳定剂应该使与天然结构相像的亚态成分最大化。经验表明，不管假设何种机理来解释这个现象，二糖的稳定效果较好<sup>[41,85,86]</sup>。

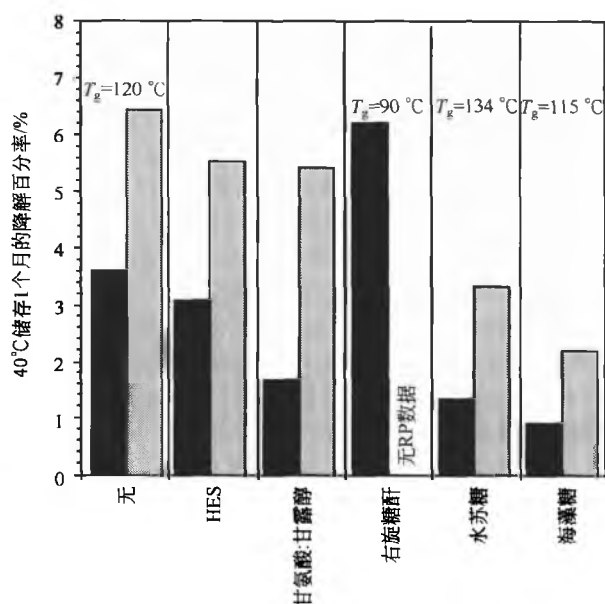


图 14 辅料对冷冻干燥人生长素储存稳定性的影响。样品在 40℃ 储存 1 个月，■聚集（主要为二聚体）；■天冬酰胺脱氨基和甲硫氨酸氧化的化学降解。初始冻干处方的玻璃化转变温度（用 DSC 测定）标在图上方。甘氨酸-甘露醇处方的质量比为人生长素：甘氨酸：甘露醇=1:1:5；右旋糖酐处方药物：右旋糖酐 40=1:6；“无”表示无稳定剂；其他的为药物：稳定剂=1:1。所有的处方含 15% 的药物与磷酸缓冲盐（pH 7.4），初始的含水量约 1%<sup>[86]</sup>

总的来说，增加储存期间的稳定性涉及以下几个方面：①优化 pH 与定位特殊的化学作用如氧化；②将蛋白质分散在惰性玻璃态中，使蛋白质动力学与基质动力学有强耦合而形成无定形相，这样，所有的残留水分和蛋白质相的储藏温度就会在玻璃化转变温度之下（注意这需要蛋白质和稳定剂存在于相同的玻璃相中）；③使用能使干燥蛋白质保持天然构象的处方或制备工艺。

保持天然构象、将蛋白质流动性和基质流动性偶合起来，用稳定剂形成单一相都需要辅料通过氢键与蛋白质表面作用。辅料与蛋白质表面的作用力很小或没有相互作用会导致相分离，蛋白质流动性与基质流动性间偶合弱以及赋形剂没有机会通过水分置换或固定蛋白质来稳定固有的构象。二糖（如蔗糖或海藻糖）和三糖（如棉子糖）被认为符合这些标准，是良好的稳定剂。聚合物并不是很有效。一种产品的玻璃化转变温度高于预期的储存条件是一项很重要的产品特性。可供选择的无定形辅料的玻璃化转变温度列于表 3 中。

海藻糖和棉子糖比蔗糖的玻璃化转变温度要高得多,在这种意义上,它们作为稳定剂是更佳的选择。但是,只要残留水分保持在低水平而且产品没有被低相对分子质量的处方塑化,在所有实际储存温度条件下,含有蔗糖的处方都可以储存在远低于玻璃化转变温度的温度下。由于极低的 $T_g$ ,山梨醇不应作为主要的处方成分;甘氨酸和甘露醇的不完全晶体化也会导致较低的玻璃化转变温度;乳糖和麦芽糖有较高的玻璃化转变温度,但它们是还原糖,因此,并不是理想的稳定剂。如前所述,由于对还原糖成分的快速水解,蔗糖和棉子糖会在低 pH 应用中出现问题。海藻糖对于低 pH 环境是较好的选择。

表 3 部分辅料通过 DSC 测定的玻璃化转变温度 ( $T_g$ )<sup>1)</sup>

辅料	$T_g/^\circ\text{C}$	文献
枸橼酸	11	[94]
甘氨酸	约 30 <sup>2)</sup>	[66]
乳糖	114	[95]
麦芽糖	100	[95]
甘露醇	13	[74, 96]
棉子糖	114	[95]
山梨醇	-1.6	[96]
蔗糖	75	[95]
海藻糖	118	[95]
麦芽-右旋糖 860	169	[95]
PVP K90	176	[95]

1) 详细的技术参阅文献。

2) 括号内的值是用 Fox 方程外推的。

对于干燥稳定化,稳定含有糖类的蛋白质通常需要一定比例的稳定剂,所加的量与蛋白质之比从 1:1 到 10:1,辅料的成分越高稳定化的效果越好。至少对于人生长激素,降解(化学降解和聚集)速率常数的对数随稳定剂与人生长激素质量比呈线性递减<sup>[92]</sup>。当蛋白质浓度在灌装溶液中很高时,高比例的稳定剂是不可行的,因为需要极其大量的稳定剂。

### 参考文献

- Pikal, M. J.; Lukes, A. L.; Lang, J. E. Thermal Decomposition of Amorphous Beta-Lactam Antibacterials. *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 1312—1316.
- Pikal, M. J.; Lukes, A. L.; Lang, J. E.; Gaines, K. Quantitative Crystallinity Determinations of Beta-Lactam Antibiotics by Solution Calorimetry: Correlations With Stability. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67, 767—773.
- Pikal, M. J.; Dellerman, K. M. Stability Testing of Pharmaceuticals by High-Sensitivity Isothermal Calorimetry at 25°C: Cephalosporins in the Solid and Aqueous Solution States. *Int. J. Pharm.* 1989, 50, 233—252.
- Pikal, M. J. Freeze Drying of Proteins, Part I: Process Design. *Biopharm.* 1990, 3 (8), 18—27.
- Pikal, M. J. Freeze Drying of Proteins; Part II. Formulation Selection. *Biopharm.* 1990, 3 (9), 26—30.
- Pikal, M. J. Freeze Drying of Proteins; Process, Formulation, and Stability. In *Formulation and Delivery of Proteins and Peptides*; Cleland, J. L., Langer, R., Eds.; ACS: Washington DC, 1994; 120—133.
- MacKenzie, A. P. Factors Affecting the Mechanism of Transformation of Ice into Water Vapor in the Freeze Drying Process. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1965, 125, 522—547.
- Broadhead, J.; Rouan, S. K. E.; Rhodes, C. T. The Spray Drying of Pharmaceuticals. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1992, 18, 1169—1206.
- Mumenthaler, M.; Hsu, C. C.; Pearlman, R. Feasibility Study on Spray-Drying Protein Pharmaceuticals; Recombinant Human Growth Hormone and Tissue-Type Plasminogen Activator. *Pharm. Res.* 1994, 11, 12—20.
- Masters, K. Applications of Spray-Drying in the Food Industry, in the Pharmaceutical-Biochemical Industry. In *Spray-Drying Handbook*; Longman Scientific and Technical: Essex UK, 1991; 491—676.
- Parenteral Lyophilization Facilities: An Innovative Approach to Loading and Unloading Operations Proceedings of the International Congress, on Advanced Technologies for Manufacturing of Aseptic and Terminally Sterilized Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals Basel Switzerland Feb. 17—19, 1992; 4—30.
- Carpenter, J.; Crowe, J.; Arakawa, T. Comparison of Solute-Induced Protein Stabilization in Aqueous Solution and in the Frozen and Dried States. *J. Dairy Sci.* 1990, 73, 3627—3636.
- Tanaka, R.; Takeda, T.; Miyajima, K. Cryoprotective Effect of Saccharides on Denaturation of Catalase by Freeze Drying. *Chem. Pharm. Bull.* 1991, 1091—1094.
- Hellman, K.; Miller, D.; Cammack, K. The Effect of Freeze Drying on the Quaternary Structure of L-Asparaginase from *Erwinia Carotovora*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1983, 749, 133—142.
- Ressing, M. E.; Jiskoot, W.; Talsma, H.; van Ingen, C. W.; Beuvery, E. C.; Crommelin, D. J. A. The Influence of Sucrose, Dextran, and Hydroxypropyl-b-Cyclodextrin as Lyoprotectants for a Freeze Dried Mouse IgG<sub>2a</sub> Monoclonal Antibody (MN12). *Pharm. Res.* 1992, 9, 266—270.
- Izutsu, K.; Yoshioka, S. Stabilization of Protein Pharmaceuticals in Freeze Dried Formulations. *Drug Stabil.* 1995, 1, 11—21.
- Bell, L. N.; Hageman, M. J. Differentiating Between the Effects of Water Activity and Glass Transition Dependent Mobility on a Solid State Chemical Reaction;



- Aspartame Degradation. *J. Agric. Food Chem.* 1994, 42, 2398—2401.
18. Pikal, M. J.; Dellerman, K. M.; Roy, M. L.; Riggan, R. M. The Effects of Formulation Variables on the Stability of Freeze Dried Human Growth Hormone. *Pharm. Res.* 1991, 8, 427—436.
19. Pikal, M. J.; Dellerman, K. M.; Roy, M. L. Formulation and Stability of Freeze Dried Proteins: Effects of Moisture and Oxygen on the Stability of Freeze Dried Formulations of Human Growth Hormone. *Develop. Biol. Standard* 1991, 74, 323—340.
20. Townsend, M. W.; DeLuca, P. P. Use of Lyoprotectants in the Freeze Drying of a Model Protein. Ribonuclease A. *J. Parenter. Sci., Technol.* 1988, 42, 190—199.
21. Prestrelski, S. J.; Pikal, K. A.; Arakawa, T. Optimization of Lyophilization Conditions for Recombinant Interleukin-2 by Dried-State Conformational Analysis Using Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1250—1259.
22. Roy, M. L.; Pikal, M. J.; Rickard, E. C.; Maloney, A. M. The Effects of Formulation and Moisture on the Stability of a Freeze Dried Monoclonal Antibody-Vinca Conjugate: A Test of the WLF Glass Transition Theory. *Develop. Biol. Standard* 1991, 74, 323—340.
23. Kiovsky, T. E.; Pincock, R. E. Kinetics of Reactions in Frozen Solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 1966, 88, 7704—7710.
24. Franks, F. Freeze Drying: From Empiricism to Predictability. *Cryo-Letters* 1990, 11, 93—110.
25. Pikal, M. J.; Shah, S. The Collapse Temperature in Freeze Drying: Dependence on Measurement Methodology and Rate of Water Removal from the Glassy Phase. *Int. J. Pharm.* 1990, 62, 165—186.
26. Williams, N. A.; Dean, T. Vial Breakage by Frozen Mannitol Solutions: Correlation With Thermal Characteristics and Effect of Sterioisomerism, Additives, and Vial Configuration. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1991, 45, 94—100.
27. Larsen, S. S. Studies on Stability of Drugs in Frozen Systems. *Arch. Pharm. Chem. Sci. Ed.* 1973, 1, 41—53.
28. Murase, N.; Franks, F. Salt Precipitation During the Freeze-Concentration of Phosphate Buffer Solutions. *Biophys. Chem.* 1989, 34, 293—300.
29. Gomez, G.; Rodriguez-Hornedo, N.; Pikal, M. J. Effect of Freezing on the pH Of Sodium Phosphate Buffer Solutions. *Pharm. Res.* 1994, 11, S-265, PPD 7364.
30. Szkudlarek, B. A.; Rodriguez-Hornedo, N.; Pikal, M. J. Analysis of pH Changes of Potassium Phosphate Buffer Salt Solutions During Freezing. *Pharm. Res.* 1994, 11, S-228, PPD 7215.
31. Arakawa, T.; Prestrelski, S.; Kinney, W.; Carpenter, J. F. Factors Affecting Short-Term and Long-Term Stabilities of Proteins. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1993, 10, 1—28.
32. Carpenter, J. F.; Prestrelski, S.; Arakawa, T. Separation of Freezing-and Drying-Induced Denaturation of Lyophilized Proteins by Stress-Specific Stabilization; I. Enzyme Activity and Calorimetric Studies. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993, 303, 456—464.
33. Franks, F. F. Product Stability During Drying. *BioPharm Conference, Proceedings 1993; Advanstar Communications; Eugene Oregon, 1993; 78—87.*
34. Franks, F. *Biophysics and Biochemistry at Low Temperature*; Cambridge University Press; London, 1985.
35. Privalov, P. Cold Denaturation of Proteins. *Biochem. And Mol. Biol.* 1990, 25, 281—305.
36. Tsong, T. Y.; Baldwin, R. L. Effects of Solvent Viscosity and Different Guanidine Salts on the Kinetics of Ribonuclease a Chain Folding. *Biopolymers* 1978, 17, 1669—1678.
37. Kiefhaber, T.; Quaas, R.; Hahn, U.; Schmid, F. X. Folding of Ribonuclease T<sub>1</sub>. 1. Existence of Multiple Unfolded States Created by Proline Isomerization. *Biochemistry* 1990, 29, 3053—3061.
38. Lim, M.; Reid, D. Studies of Reaction Kinetics in Relation to The T<sub>g</sub>' Of Polymers in Frozen Model Systems. *Water Relationships in Food*; Levine, H., Slade, L., Eds.; Plenum Press; New York, 1991; 103—122.
39. Pikal, M. J.; Shah, S.; Senior, D.; Lang, J. E. Physical Chemistry of Freeze Drying: Measurement of Sublimation Rates for Frozen Aqueous Solutions by a Micro Balance Technique. *J. Pharm. Sci.* 1983, 72, 635—650.
40. Pikal, M. J.; Shah, S.; Roy, M. L.; Putman, R. The Secondary Drying Stage of Freeze Drying: Drying Kinetics as a Function of Temperature and Chamber Pressure. *Int. J. Pharm.* 1990, 60, 203—217.
41. Pikal, M. J. Mechanisms of Protein Stabilization During Freeze Drying and Storage: The Relative Importance of Thermodynamic Stabilization and Glassy State Relaxation Dynamics. In *Freeze Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*; Rey, L., May, J., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; 1999.
42. Chang, B. S.; Kendrick, B. S.; Carpenter, J. F. Surface-Induced Denaturation of Proteins During Freezing and its Inhibition by Surfactants. *J. Pharm. Sci.* 1996, 85, 1325—1330.
43. Roy, M. L.; Pikal, M. J. Process Control in Freeze Drying: Determination of the End Point of Sublimation Drying by an Electronic Moisture Sensor. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1989, 60—66.

44. Pikal, M. J.; Roy, M. L.; Shah, S. Mass and Heat Transfer in Vial Freeze Drying of Pharmaceuticals: Role of the Vial. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73, 1224—1237.
45. MacKenzie, A. P. Basic Principles of Freeze Drying for Pharmaceuticals. *Bull. Par. Drug Assoc.* 1966, 20, 101—129.
46. Chang, B. S.; Randall, C. S. Use of Subambient Thermal Analysis to Optimize Protein Lyophilization. *Cryobiology* 1992, 29, 632—656.
47. Pikal, M. J. Use of Laboratory Data in Freeze Drying Process Design: Heat and Mass Transfer Coefficients and the Computer Simulation of Freeze Drying. *J. Parenteral Sci., Technol.* 1985, 39, 115—138.
48. Milton, N.; Nail, S. L.; Roy, M. L.; Pikal, M. J. Evaluation of Manometric Temperature Measurement as a Method of Monitoring Product Temperature During Lyophilization. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 1997, 51, 7—16.
49. Kobayashi, M. Development of New Refrigeration System and Optimum Geometry of the Vapor Condenser for Pharmaceutical Freeze Dryers Proceedings of the 4th International Drying Symposium, Kyoto, Japan, July 9—12, 1984; Toei, R. R., Mujumdar, A., Eds.; 2, 464—471.
50. Pikal, M. J.; Lang, J. E. Rubber Closures as a Source of Haze in Freeze Dried Parenterals: Test Methodology for Closure Evaluation. *J. Parenter Drug Assoc.* 1978, 32, 162.
51. Bardat, A.; Biguet, J.; Chatenet, J.; Courteille, F. Moisture Measurement: A New Method for Monitoring Freeze Drying Cycles. *J. Parenter Sci. Technol.* 1993, 47, 293—299.
52. Moreira, T.; Cabrera, L.; Gutierrez, A.; Cadiz, A.; Castellano, M. Role of Temperature and Moisture on Monomer Content of Freeze Dried Human Albumin. *Acta Pharm. Nord.* 1992, 4, 59—60.
53. Pristoupil, T.; Kramlova, M.; Fortova, H.; Ulrych, S. Haemoglobin Lyophilized With Sucrose: The Effect of Residual Moisture on Storage. *Haematologia* 1985, 18, 45—52.
54. Hageman, M. J. The Role of Moisture in Protein Stability. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1988, 14, 2047—2070.
55. Greiff, D. Protein Structure and Freeze Drying: The Effects of Residual Moisture and Gases. *Cryobiology* 1971, 8, 145—152.
56. Hsu, C.; Ward, C.; Pearlman, R.; Nguyen, H.; Yeung, D.; Curley, J. Determining the Optimum Residual Moisture in Lyophilized Protein Pharmaceuticals. *Develop. Biol. Standard* 1991, 74, 255—271.
57. Pikal, M. J.; Shah, S. Moisture Transfer from Stopper to Product and Resulting Stability Implications. *Develop. Biol. Standard* 1991, 74, 165—179.
58. MacKenzie, A. P. Collapse During Freeze Drying Qualitative and Quantitative Aspects. *Freeze Drying and Advanced Food Technology*; Goldblith, S. A., Rey, I., Rothmayr, W. W., Eds.; Academic Press; London, 1975; 277—307.
59. Her, L. M.; Nail, S. L. Measurement of Glass Transition Temperatures of Freeze-Concentrated Solutes by Differential Scanning Calorimetry. *Pharm. Res.* 1994, 11, 54—59.
60. Pikal, M. J.; Shah, S.; Unpublished Data Eli Lilly & Co.
61. MacKenzie, A. P.; as Cited in Ref. 4.
62. Slade, L.; Levine, H. Beyond Water Activity: Recent Advances Based on an Alternative Approach to the Assessment of Food Quality and Safety. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1991, 30, 115—360.
63. Pikal, M. J.; Chang, L. Q.; Unpublished Data University of Connecticut.
64. Shalaev, E. Y.; Kanev, A. N. Study of the Solid-Liquid State Diagram of the Water-Glycine-Sucrose System. *Cryobiology* 1994, 31, 374—382.
65. Shalaev, E.; Malakhov, D. V.; Kanev, A. N.; Tuzikov, F. V.; Varaskin, N. D.; Vavilin, V. I. Study of the Phase Diagram Water Fraction of the System Water-Glycine-Sucrose by DTA and X-ray Diffraction Methods. *Thermochim. Acta* 1992, 196, 213—220.
66. Lueckel, B.; Bodmer, D.; Helk, B.; Leuenberger, H. Formulations of Sugars with Amino Acids or Mannitol-Influence of Concentration Ratio on the Properties of the Freeze-Concentrate and the Lyophilizate. *Pharm. Develop. and Technol.* 1998, 3, 325—336.
67. Suzuki, T.; Franks, F. Solid-Liquid Phase Transitions and Amorphous States in Ternary Sucrose-Glycine-Water Systems. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1993, 89, 3283—3288.
68. Kassraian, K.; Spitznagel, T.; Juneau, J.; Yim, K. Characterization of the Sucrose/Glycine/Water System by Differential Scanning Calorimetry and Freeze Drying Microscopy. *Pharm. Develop. and Technol.* 1998, 3, 233—239.
69. Hancock, B. C.; Zografi, G. The Relationship Between the Glass Transition Temperature and the Water Content of Amorphous Pharmaceutical Solids. *Pharm. Res.* 1994, 11, 471—477.
70. Williams, N. A.; Lee, Y.; Polli, G. P.; Jennings, T. A. The Effects of Cooling Rate on Solid Phase Transitions and

- Associated Vial Breakage Occurring in Frozen Mannitol Solutions. *J. Parentes. Sci. and Tech.* 1986, 40, 135.
71. Williams, N. A.; Guglielmo, J. Thermal Mechanical Analysis of Frozen Solutions of Mannitol and Some Related Steroisomers; Evidence of Expansion During Warming and Correlation with Vial Breakage During Lyophilization. *J. Parenter Sci., and Technol.* 1993, 47, 119—123.
72. Akers, M. J.; Milton, N.; Byrn, S. R.; Nail, S. L. Glycine Crystallization During Freezing: The Effects of Salt Form, pH, and Ionic Strength. *Pharm. Res.* 1995, 12, 1457—1461.
73. Yu, L.; Milton, N.; Groleau, E.; Mishra, D.; Vansickle, R. Existence of a Mannitol Hydrate During Freeze Drying and Practical Implications. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88, 196—199.
74. Kim, A. I.; Akers, M. J.; Nail, S. L. The Physical State of Mannitol After Freeze Drying; Effects of Mannitol Concentration, Freezing Rate, and a Noncrystallizing Cosolute. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 931—935.
75. Cavatur, R. K.; Suryanarayanan, R. Characterization of Phase Transitions During Freeze Drying by In Situ X-ray Powder Diffractometry. *Pharm. Develop. and Technol.* 1998, 3, 579—586.
76. Bam, N. B.; Cleland, J. L.; Yang, J.; Manning, M. C.; Carpenter, J. F.; Kelley, R. F.; Randolph, T. W. Tween Protects Recombinant Human Growth Hormone Against Agitation-Induced Damage Via Hydrophobic Interactions. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1554—1559.
77. Bam, N. B.; Randolph, T. W.; Cleland, J. L. Stability of Protein Formulations; Investigation of Surfactant Effects by a Novel EPR Spectroscopic Technique. *Pharm. Res.* 1995, 12, 2—11.
78. Kerwin, B. A.; Heller, M. C.; Levin, S. H.; Randolph, T. W. Effects of Tween 80 and Sucrose on Acute Short-Term Stability and Long-Term Storage at  $-20^{\circ}\text{C}$  of a Recombinant Hemoglobin. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1062—1068.
79. Li, S.; Schoneich, C.; Borchardt, R. Chemical Instability of Protein Pharmaceuticals; Mechanisms of Oxidation and Strategies for Stabilization. *Biotech. Bioeng.* 1995, 48, 490—500.
80. Li, S.; Schoneich, C.; Wilson, G.; Borchardt, R. Chemical Pathways of Peptide Degradation. V. Ascorbic Acid Promotes Rather than Inhibits the Oxidation of Methionine to Methionine Sulfoxide in Small Model Peptides. *Pharm. Res.* 1993, 10, 1572—1579.
81. Stadman, E. R. Metal Ion-Catalyzed Oxidation of Proteins; Biochemical Mechanism and Biological Consequences. *Free Radical Biol. Med.* 1990, 9, 315—325.
82. Hall, P.; Roberts, R. Methionine Oxidation and Inactivation of  $\alpha_1$ -Proteinase Inhibitor by  $\text{Cu}^{2+}$  And Glucose. *Biochim. Biophys. Acta* 1992, 1121, 325—330.
83. Li, S.; Schoneich, C.; Borchardt, R. Chemical Pathways of Peptide Degradation. VIII. Oxidation of Methionine in Small Model Peptides by Prooxidant/Transition Metal Ion Systems; Influence of Selective Scavengers for Reactive Oxygen Intermediates. *Pharm. Res.* 1995, 12, 348—355.
84. Brems, D. N. Solubility of Different Folding Conformers of Bovine Growth Hormone. *Biochemistry* 1988, 27, 4541—4546.
85. Carpenter, J. R.; Pikal, M. J.; Chang, B. S.; Randolph, T. W. Rational Design of Stable Lyophilized Protein Formulations; Some Practical Advice. *Pharm. Res.* 1997, 14, 969—975.
86. Pikal, M. J. Freeze Drying of Proteins. In *Peptide and Protein Delivery*; Lee, V. H. L., Ed.; in press Marcel Dekker, Inc.; New York.
87. Arakawa, T.; Kita, Y.; Carpenter, J. F. Protein-Solvent Interactions in Pharmaceutical Formulations. *Pharm. Res.* 1991, 8, 285—291.
88. Pikal, M.; Busse, J.; Kovach, P.; Unpublished Results Eli Lilly & Co.
89. Pikal, M. J. Impact of Polymorphism on the Quality of Lyophilized Products. In *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*; Brittain, H. G., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1999.
90. Saleki-Gerhardt, A.; University of Wisconsin-Madison; 1993.
91. Duddu, S.; Zhang, G.; Dal Monte, P. The Relationship Between Protein Aggregation and Molecular Mobility Below the Glass Transition Temperature of Lyophilized Formulations Containing a Monoclonal Antibody. *Pharm. Res.* 1997, 14, 596—600.
92. Pikal, M. J.; Roy, M. L.; Rigsbee, D. R.; Unpublished Data Eli Lilly & Co.
93. Shamblin, S. L.; Tang, X.; Chang, L.; Hancock, B. C.; Pikal, M. J. Characterization of the Time Scales of Molecular Motion in Pharmaceutically Important Glasses. *J. Phys. Chem. B* 1999, 103, 4113—4121.
94. Lu, Q.; Zografi, G. Properties of Citric Acid At the Glass Transition. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86, 1374—1378.
95. Taylor, L.; Zografi, G. Sugar-Polymer Hydrogen Bond Interactions in Lyophilized Amorphous Mixtures. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1615—1620.
96. Yu, L.; Mishra, D.; Rigsbee, D. Determination of the Glass Properties of D-Mannitol Using Sorbitol as an Impurity. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 774—777.

# 冷冻干燥的工艺放大

Edward H. Trappler

Lyophilization Technology, Inc., Ivyland, Pennsylvania, U. S. A.

## 引言

产品的外观、处方和工艺过程对于冻干产品生产结果的影响至关重要。开发过程涉及临床知识和稳定性要求、处方和产品设计、合适的工艺条件的研究,还要明确产品将来要进行大规模的常规的商品化生产。产品进行临床研究以及开始上市批量生产,往往需要很多步骤与增加批产量。在将产品引入市场的过程中,逐渐增大批产量时要全面考虑设备、生产能力、工艺影响以及终产品的性质。

## 开发和放样途径

在将一种新产品引入市场的过程中,从最初的开发批量到商业化生产的放大是一项重要的活动。这个过程包括在充分的初始开发后将产品生产的进行转移,最终将程序整合到商业生产环境中。作为后期开发活动的一部分,稳定性和早期临床研究用的材料通常是小规模制备的。这包括将制备方法向生产环境的第一次转移。临床研究成功后,对产品的外观、生产程序进行改进,为了商业化生产,将工艺在生产环境中复制放大。

对于批准研究的新药(IND),将一种新药开发成产品,需要在Ⅰ期临床到Ⅲ期临床阶段给患者服用药物以建立安全性、有效性和剂量治疗方案。最初进行这些研究的开发活动集中在制备药品。为了满足临床研究药物供给的

需要,最初产品的外观往往会与上市的最初产品有所不同。随着临床试验的进展,活性药物成分(API)的生产、分析方法、产品设计、生产流程都会加以建立并完善。随着早期的临床试验的成功并进入Ⅲ期临床研究阶段,产品和规格都会最终确定。确证了API,验证了分析方法,确定了产品的外观和规格,以及建立了最终产品的生产流程。

最初的开发活动集中于准备供应早期临床研究的需求,及对处方和外观进行设计以满足产品需要。产品的外观是基于临床环境下患者合适的用药方式及活性成分的稳定性需求。对于那些对水分敏感的产品以及制成溶液剂稳定性差的产品,冷冻干燥是一种保存方法。低温真空干燥过程将水分除去,留下干燥的固体,结果使产品具有足够的稳定性能长期存储。使用时,产品用稀释剂复溶,重新恢复液体产品的性质,得到适合给药的制剂。冻干制剂的一个优点是,通过改变稀释剂的体积,可以得到不同浓度的API,用药时的体积也可以改变,从而单一的制剂可以有不同的剂量。一旦确定适合于早期临床研究的最初产品的外观,就可以开发工艺流程。初始冻干工艺的焦点是可靠和容易放大,而不是为常规生产优化参数。实际上,最初开发的外观不一定是最终上市的,产品外观可能随着临床研究的结果而改变。后续的开发活动经常包括对产品和流程的一系列改进。因此在把产品引入市场的过程中,会发生多次放大和技术转移。

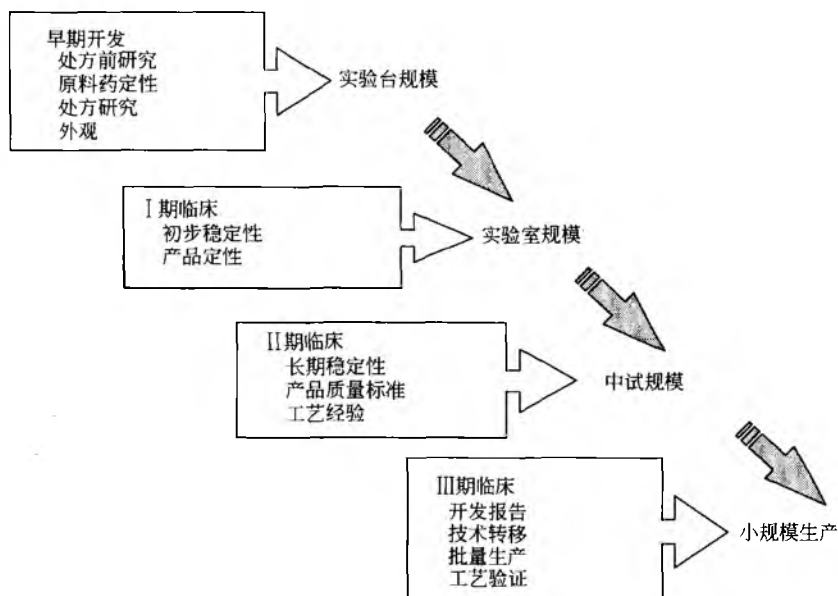


图1 向生产规模过渡的目标与操作

## L

随着产品通过开发与临床研究的各个阶段,产品和工艺设计得到改进。随着临床需求样品量的增加,可以从逐渐增加的产品批量生产中获得制备经验。最终,Ⅲ期临床研究所需的产品批产量可能接近典型的商业生产的规模。图1描述了产品从初始开发阶段到生产规模操作的各步骤的目标与环境。产品生命周期中的初步成功及增加的适应证需要更大的批量来满足增长的市场需求。产品由开发到临床研究的进展,随后的上市与潜在的市场增长,规模扩大从较小的批量开始逐渐增大。

制剂设计和合适的冻干工艺的开发首先会在实验室进行。产品的设计主要集中在处方与外观。在开发合适的处方时主要目的是使API稳定、为患者服药赋予产品必要的特征及确定合乎要求的冻干产品特征。与这些目的有关的是浓度、规定的灌装体积的外观参数及容器与胶塞的选择。处方和外观都会影响冻干工艺所需的条件。

在开发阶段,要考查关键工艺的参数变化,将新产品和相关的新程序整合进生产的准备,保证了对产品和生产所必需的方法有一个透彻了解。这些生产方法必须有效并能充分可控,不管是对早期临床研究的小规模生产,还是改进后对后期商业产品的常规批量生产。生产能力可以是目前自行生产的能力,也可以是在提供合同生产服务的其他工厂中的生产能力。生产成品的场所通常会影响到规模扩大化时获得有关生产能力以及技术转化难易的信息。

潜在新产品的初期开发,主要集中为早期临床研究设计产品和合适的制备方法。由于还未确定临床是否成功,冻干工艺的开发集中于短期目标的努力,限制时间是绝对必要的。早期临床研究的结果会在临床试验过程中指导产品的设计和制备工艺的改进。优先设计与预期给药途径相适应的产品外观,临床上使用方便,剂量灵活可调,并且在临床研究期间提供足够的稳定性。在早期临床研究时知识、经验以及原料药的数量均有限,几乎没有机会进行广泛的产品设计和工艺开发。目标集中于合适的产品设计以完成研究,以及足够稳定的工艺供技术转移和规模扩大。

在这些早期开发阶段,优化的工艺应安全、稳定、高效和有效,在生产临床样品时困难的风险最小。将产品从早期开发阶段转化到临床供应生产,挑战涉及原材料的供应、合适的产品设计以及生产能力。通常在临床研究开始阶段,原料的工艺方法还在改进,API还没有很好的定性,并且供应有限。由于开始临床研究的压力,项目的进度要加快,一系列努力的最终目的是转移到工厂生产。在少量开发研究和有限数据的基础上,早期临床生产规模扩大的目标是对合适的生产工艺危险程度的控制,但该工艺不一定有助于大规模的商业生产。

随着临床研究的进展,开发工作可以开始集中在成品设计和通过在实验室的扩大研究确定工艺参数。这些研究的目的是改进适合生产环境下的常规工艺流程,也包括工艺验证研究。随着从开发到商业化生产的进展中批产量的增大,验证研究的范围和程度也同时扩大。图2表示开发工作及相应的验证程度,对API生产、成品生产和分析方

法进行了改进,为大规模商业化生产扩大批产量作准备。

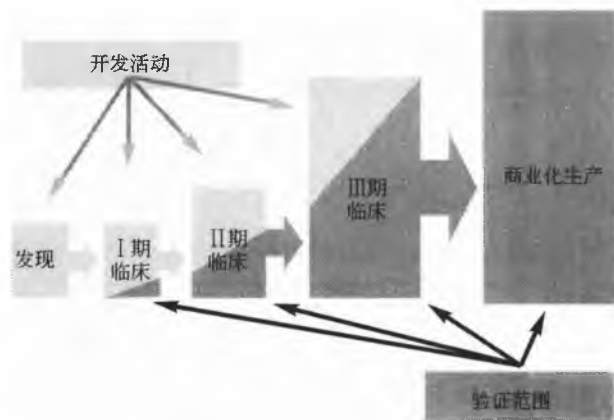


图2 批产量、开发工作和验证程度

开发工作的成功与否由技术转移和放样的容易程度衡量。实验室的小规模研究需要将影响大规模生产的因素整合进去,目的是为了开发一个安全、有效、高效和足够稳定的工艺,使生产技术转化成常规的大规模商业生产。产品设计的目的是有效、稳定、安全、易用。工艺设计可以建立所需的成品特性和容易实现重复性的生产,且持续实现高质量、高得率和低消耗。处方、产品设计和制备方法会相互影响,所以在开发时考虑它们之间的相互作用是非常重要的。

## 产品设计

产品特性和在早期临床研究的功能是最初产品开发的驱动力。通常,在早期的衔接中对原料药的性质认识有限。处方前的研究提供了诸如溶解度、pH的影响、对环境的敏感性的预测等特性。溶解度与药理学的特性一起决定了产品容器的体积;对环境的敏感性包括温度、光照、氧气以及接触面积,在有水存在的情况下,冻干制法特有的水解可能引发降解。每个方面,尤其是对环境的敏感性,需要在处方前和准备放样的开发研究中考虑到。

选择产品容器方面要考虑生产中的初始灌装体积和复溶的体积,以及临床使用的便捷性。后期考虑包括商业生产时冻干机的批量生产能力。在冻干机内采用小直径的容器可以增加每层搁板放置容器的数量,从而增加了批量。这对每瓶的生产成本和后期满足增长的市场需求的能力都会有影响。有时从早期临床研究到批准商业生产容器的大小有可能改变,这些变化应该预计到而且是不可避免的。容器的来源随着规模的扩大也有可能改变,因此在开发阶段要谨慎评价不同来源的容器,至少在准备常规生产时对第一和第二供应商进行资格审核。这同样适用于成品的容器封装系统的主要屏障橡胶塞。产品相容性、可生产性和容器封装的完整性都需要对首选的和替补的部件进行评价,从而避免单一来源的物料。



## 处方设计和产品特性

产品性质、稳定性要求、给药途径和制备工艺都会影响产品处方的设计。这些方面的特别细节超出了本文的范围，由 Pikal 在本书的其他地方介绍。由于产品开发和规模扩大发生在制备临床研究样品和随后的商业生产的过程中，预期会产生大量的数据。这些数据对研究产品的性质以及理解产品的关键需求、敏感性、性能非常重要。分析冻干产品有助于在不同环境中扩大批产量。在评价冻干制剂的性质的同时，建立成品的质量标准。

当上游的生产从小规模转向大规模时，原料药的质量可能会改变。这些变化可能会影响成品的性能。分析原料药以监测包括效价与纯度的任何变化。低温热分析方法也可以用于评价任何变化对原料药产生的影响。质量与纯度的变化会影响溶液的相转变、冷冻时的状态和干燥时的温度阈值。上游原料药工艺放大或发生显著的改变时，为了考查对下游工艺和成品性质的影响，必须对原料的质量与纯度进行评价。

在临床研究过程中，处方与产品外观可能需要调整。后期临床研究中，活性成分的浓度和剂量可能会进行调整。如果这些改动不大，就可以不对制备工艺进行调整。明显的变更需要进一步的开发，因为冻干工艺条件需要改进，还需要随后的放样研究。

## 产品制备

在开发阶段，条件可能没有明显的影响，而在大规模生产中会有明显的影响。这包括产品的水溶液保存时间和暴露于差异很大的环境条件。当批产量由临床样品制备向大规模生产增大时，从原料药配制成溶液到样品冷冻干燥的时间会延长。小批量在实验台上就可进行配方，只需要几小时来进行过滤、灌装和开始冷冻干燥。常规生产时，在无菌过滤和灌装前配制溶液和放置需要数小时。制备一批样品所需的时间上的不同保证了溶液温度的降低，从而将降解反应降到最小。如果将阿仑尼乌斯公式应用于温度依赖的反应速率常数，与 25℃ 相比，溶液存储时保持 5℃

会大大减少降解。当样品在溶液状态时稳定性有限，这样的操作是合适的。

开发期间仅仅因批量不同，用于配料的容器可能不同。在准备规模扩大时需要重点考虑这些不同物料的相容性。实验室规模研究和临床小批量生产可以在玻璃锥形烧瓶或大玻璃瓶中配料；商业规模的生产通常会使用大型的不锈钢罐。产品直接接触的不同材料的相容性需要进行评价。基于溶液容器的结构，体积与表面积之比会有所改变。这会与空气的接触以及对氧气和二氧化碳的吸收。为了减少这些敏感剂如氧气的作用，在处方中可能要加入抗氧化剂。当配制大体积的溶液时，光照程度也会不同。在处方前和早期开发研究中考察这些敏感性是非常重要的，在规模扩大中也需要加以考虑。

## 冻干工艺的开发

部分开发研究集中于确定要控制的关键工艺参数，以实现工艺的重现性和成品的一致性。冻干产品开发中不可缺少的部分是建立合适的制备工艺参数，包括将灌装液体的容器加塞后进箱和从冻干机将干燥产品出箱。冻干工艺包括进箱、冷冻、任何形式的热处理、一次和二次干燥、压塞和出箱。这些步骤的关键工艺参数是搁板的温度、箱体压力和时间。这些参数被认为是独立的，因为他们是直接控制下的变量，只受制备过程中施加的控制的影响。表 1 描述了制备以溶菌酶为代表的蛋白质制剂的工艺，及独立参数的详细情况。表 2 列出了自动化控制系统编程中使用的参数值。图 3 显示了执行表 2 列出的工艺参数进行批生产时记录的曲线。图中显示了实际的搁板温度、箱体压力和时间以及成品温度。注意产品需要保持在阈值温度以下以确保干燥的完成。产品温度的突然升高，称为“突破”，反映出升华的前沿通过温度传感器。如果传感器位于容器的底部，这次突破就表明所有容器内的冰都升华了。然后产品的温度升高，接近搁板温度，此时适于执行二次干燥时解吸附的参数。对于开发一个足够稳定的工艺和控制规模扩大时的变量，理解关键工艺参数对产品状态的影响是非常重要的。

表 1 冻干工艺描述：模型药物

步骤	工艺参数
进箱	5℃ (±5℃) 1atm 放置 2h
冷冻	以 30℃/h 的平均速度将搁板冷却至 -40℃ 控制搁板温度于设定值 -40℃ (±5℃) 3h
一次干燥	抽真空，控制真空度至设定值 80μmHg (±20μmHg) 以 30℃/h 的平均速度将搁板升至 -10℃ 控制搁板温度于设定值 -10℃ (±5℃) 15h
二次干燥	控制箱体压力为设定值 80μmHg (±20μmHg) 以 30℃/h 的平均速度将搁板升至 30℃ 控制搁板温度于设定值 30℃ (±5℃) 5h

续表

步骤	工艺参数
压胶塞	控制箱体内压力为设定值 1atm 控制搁板温度于设定值 30℃ (±5℃)

表 2 冷冻干燥工艺控制参数表: 溶菌酶模型药物

步骤	工艺条件		时间段/h
	搁板温度	压力	
进箱	5℃	atm	2
冷冻	降温 30℃/h	atm	1.5
	至 -40℃	atm	3
一次干燥	升温 30℃/h	80μmHg	1
	至 10℃	80μmHg	15
二次干燥	升温 30℃/h	80μmHg	0.6
	至 30℃	80μmHg	5
压胶塞	30℃	atm	总 27.2

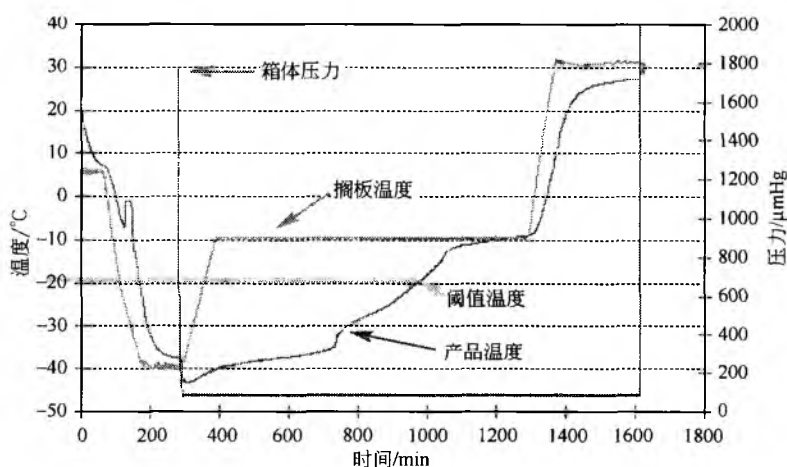


图 3 冷冻干燥工艺: 溶菌酶模型药物

许多研究证明了隔板温度对产品温度和升华速率的影响。Deluca 在其 1984 年发表的研究中证明, 隔板温度主要影响升华速率, 对产品温度的上升也有一定的影响<sup>[1]</sup>。表 3 的数据表明, 搁板温度每增加 10℃, 升华明显加快, 有时候速率几乎可以增加 1 倍。同时也导致产品温度的增加, 虽然只升高了 2~3℃。升华会消耗热量, 但消耗的热量由搁板提供。搁板的温度越高, 所提供产品的热量就越多, 因此升华的速率就会越快。搁板的热量会加快升华速率, 水蒸气的从升华前沿的演变和试图达到稳态的产品温度往往是一个脆弱的平衡。升华前沿上层的干燥层限制了提供推动升华速度所需的热量。Pikal 等研究了这种关系, 建立了处方中的溶质对水蒸气穿过升华前沿上面的干燥层的质量迁移的影响的模型<sup>[2]</sup>。在他们的研究中, Pikal 等定义了晶体和无定形溶质的模型, 预测了水蒸气质量迁移的阻力。他们也注意到浓度对物质迁移的影响。人们长期以来一直对建立这些独立参数的模型很感兴趣, 包括搁板温度、箱

体压力、进箱及一次干燥和二次干燥的冷冻时间<sup>[3~7]</sup>。这些兴趣包括工艺的效率和对成品性质如残留水分的影响等。

表 3 不同搁板温度下预计的干燥速率和产品温度<sup>[1]</sup>

搁板温度 设定/℃	平均产品 温度/℃	平均升华 速率/(L/h)
50	-10	2.43
40	-12	2.15
30	-14	1.51
20	-17	1.15
10	-20	0.68

Nail 调查了箱体压力对热传递和相关升华速率的影响。箱体压力主要影响产品温度。搁板温度主要影响升华的速率, 箱体压力对从搁板到药瓶的热传导以及冰和环境的蒸

气压差有很大影响,两者一起对产品温度有直接的影响。压差的加大会增大冰升华的倾向。例如,产品温度在 $-32^{\circ}\text{C}$ 时,相应的冰蒸汽压力为 $321\mu\text{mHg}$ ,而箱体压力为 $300\mu\text{mHg}$ ,差距很小,冰转化为蒸汽的驱动力也很弱。热传递增加,而升华速率很小,会导致产品温度增加。当箱体压力为 $50\mu\text{mHg}$ 时,较大的压差会加快冰转化为蒸汽的速率。较快的升华和因低压引起的热传递下降,会降低产品的温度。在恒定的隔板温度下 Pikal 等,得到升华速率与箱体压力的关系,结果见表 4<sup>[9]</sup>。升华时箱体压力和升华前沿的冰蒸汽压之间的压差值,升华前沿以上的干溶质层的压差,对冰-气表面升华的水蒸气穿过干燥层时的物质流动有相当大的影响。当冰-气界面形成升华前沿,穿过初始分散于容器中的药液,水蒸气运动的距离会增加。由更低的箱体压力产生的这段距离的高压差会促进水蒸气流过干燥层。这样就相应减少了水蒸气在冰-气界面的浓度,因此,增加了冰升华的趋势。

表 4 不同箱体压力下预计的干燥速率和产品温度<sup>[9]</sup>

箱体压力/ $\mu\text{mHg}$	平均升华速率/(g/h)
400	0.55~0.61
200	0.53~0.55
100	0.42~0.45
68	0.37~0.39

注:数据范围来源于不同厂家的 20mL 管制瓶。

还没有完全了解为达到完全干燥所有影响解吸附以达到足够低的水分残留的因素,所以这是一个研究者感兴趣的领域。历史上,传统的经验主张冰升华后低压能很容易地除去任何结合水。这些水可能与溶质结合,是无定形组成的一部分,或仅仅吸附在溶质表面。搁板温度和箱体压力条件及其对达到低残留水分的影响还不十分清楚,越来越引起人们的兴趣。Pikal 等的研究表明,二次干燥时减压并不会对解吸附速率有太大影响,至少在模型制剂和工艺条件的研究中是如此<sup>[10]</sup>。

与不同的条件相关的时间同样也是关键的独立工艺参

数。要达到完全的固化,需要在最短的时间内有足够的低温。在一次干燥中,时间影响冰升华;在二次干燥中,为了产品的稳定性需达到合适的残留水分。时间影响相应工艺步骤的完成。时间作为可控变量的简单性并不表示该工艺参数不重要。温度、压力、时间 3 个参数中的每一个,在发展过程中加以确定,每一个参数都是至关重要的,需要满足工艺的要求,不管制备设备和生产规模到底如何。包括早期临床样品的小规模制备和上市产品的常规大规模生产。

非独立的工艺变量源于在制备过程中实施直接控制的独立参数。当独立参数改变时,对工艺条件有所影响,通过非独立参数反映出来。对独立参数的合理控制可以得到可接受的非独立变量,从而高度可信性,保证成品达到所期望的性质。合理地确定和执行工艺参数有望生产出预期质量、纯度、效价和稳定性的成品。

产品温度是主要的非独立变量,它反应了冻干的整个过程。在冷冻时,产品降到最低温并保持足够的时间完成必要的固化。该温度由处方特性及开发过程中热分析研究测定结果来确定。如果通过临床试验的处方有所改变,还需要谨慎确定其理化性质。

在转移和放样中即使细微的差异也会对达到关键平衡有实质性的影响。在开发阶段工艺足够的稳定有助于放样的成功。早期为临床研究进行的工艺开发的确是很少的。随着临床研究的进展,需要进一步的开发以确定适合于常规生产的工艺。这包括工艺稳定性研究以建立关键参数的可变范围。一旦确定搁板温度、箱体压力和时间等独立变量的目标工艺条件,进一步的研究便集中在确定合适的边界条件以建立可接受的范围<sup>[11]</sup>。表 5 概括了这些研究的可变工艺条件,并以图 4 表示,反映易于整合进商业生产环境的足够稳定的工艺的预期变量范围。这些研究可作为开发研究的一部分或作为独立进行的工艺变量验证。将这些研究作为开发还是验证的一部分并不重要,重要的是在放大生产规模前完成这些研究。最好的工艺在于足够稳定,因放样或转移引起的轻微变化和影响显得不重要。

表 5 证明可接受范围的关键工艺条件

工艺条件	进箱	冷却速度	冷冻	首次变温	首次干燥	二次变温	二次干燥
搁板温度							
高	$10^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$-35^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$-5^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$35^{\circ}\text{C}$
目标	$5^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$-40^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$-10^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$30^{\circ}\text{C}$
低	$0^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$-45^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$-15^{\circ}\text{C}$	$0.5^{\circ}\text{C/h}$	$25^{\circ}\text{C}$
箱体压力							
高				$100\mu\text{mHg}$	$100\mu\text{mHg}$	$100\mu\text{mHg}$	$100\mu\text{mHg}$
目标	atm	atm	atm	$80\mu\text{mHg}$	$80\mu\text{mHg}$	$80\mu\text{mHg}$	$80\mu\text{mHg}$
低				$60\mu\text{mHg}$	$60\mu\text{mHg}$	$60\mu\text{mHg}$	$60\mu\text{mHg}$
时间	2h		3h		15h		5h、7h 和 9h

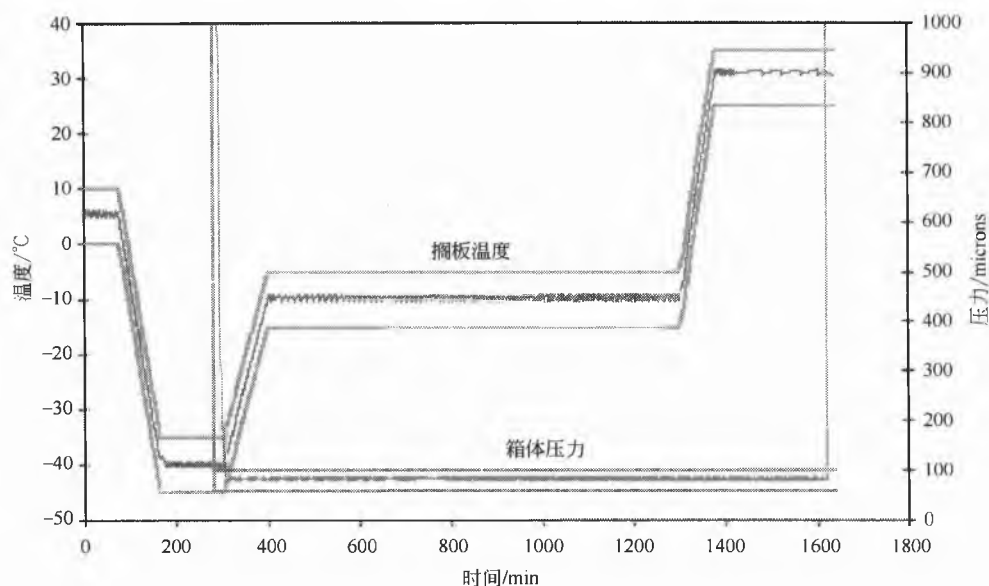


图4 冻干可接收的范围：溶菌酶模型制剂

## 成品特性

干燥品的性质取决于处方的性质与制备过程中的条件。在大规模生产上使用相同的工艺条件，开发阶段所达到的质量特性可以重复，这种期望不是至关重要的。任何工艺条件的差异可以引起随后的工艺步骤的差别，以及成品性质的差别。一个全面的产品评价方案包括分析评价产品的理化方面，以及冻干产品特有的性质，包括物理外观、复溶时间、复溶溶液的质量以及残留水分。

除了液体和易用产品的特点外，冻干制剂还具有干燥制品的特有性质<sup>[12]</sup>。干饼的物理外观、残留水分、复溶时间、复溶溶液的澄明度都是产品定性的重要内容。冻干的最终结果就是在产品被复溶后保持产品第一次制备时的性质。通过验证研究证明来报告以下的能力：当起始物料的质量是可接受的，合适的、良好控制的工艺是重现的，成品的质量、纯度、效价和稳定性都是可预测的。至少通过化学分析表明预期的产品性质会在产品制备过程中一直保留，工艺条件是合适的。测定产品的效价是非常重要的，它证明了灌装及冻干操作都是合适和可控的，生产的产品具有所需的药效。避免制备过程中的任何降解情况同样也是相当重要的。采用特异性分析技术保证达到目标且产品符合预定的质量标准。

干燥品的外观对其本身来说，并不是关键的产品性质。但也能反映出工艺的成功与否以及成品的质量。合适的工艺条件成功的衡量指标及目标是形成并保留冷冻时的质量。正如 Mac-Kenzie 描述的，有水分残留的冷冻干燥及在一次、二次干燥时避免坍塌，反映了合适的工艺的成功水平<sup>[13]</sup>。如果采用了合适的工艺条件，保证冷冻时的充分固化，一次、二次干燥时产品始终保持在阈值温度下，冷冻时形成的产品结构就会受到保护。产品在高于阈值温度下

加热，或超过玻璃化转变温度使结构坍塌，或超过低共熔点融化，都会使物料回复到液体。每种情况都改变物料的结构，影响进一步加工时的产品状态和成品的性质。结构的改变会妨碍升华和解吸附，从而导致残留水分高，也会影响复溶。干燥品结构的任何改变都可以通过物理检查，评价干饼的外观。

干燥物料的物理外观有时会有很大程度的改变。这部分依赖于处方的性质和制备中所使用的技术。干饼的外观是预冻时冰晶的一个镜像。图5阐明了由冰晶大小所致的结构的差异引起的干燥品外观的变化。冰晶大，结构显得粗糙；冰晶小，块状结构很细致。搁板冷冻时的冷却速度会影响冰晶结构。这依赖于冰晶成核的温度和冰晶成长的速度。Searles 等调查了冷却速率和热处理对预期的冰晶大小差别的影响<sup>[14]</sup>。如果冷却速率与生产部门的产品制备不同，则物理外观就会不同。



图5 冻干的饼状外观

物理表现本身并不是产品的关键性质，但它也反映出干饼的粗糙或细致结构性质，可能会与其他性质如复溶时间相关。例如，在冷冻固化时如果形成大冰晶，冰晶升华后会在产品中留下大的空隙，在复溶时，这些大孔隙给稀释剂的渗入提供了通道。冷冻速率的变化可能会影响冰晶大小，使干燥品的结构发生变化，影响复溶时的难易。在开发阶段必须确定干燥品完全变成溶液所需的时间。

易复溶是所期望的产品特性，虽然它次于质量、纯度、效价和稳定性。复溶有时表明有物料塌陷和没能干燥，并保留了在冷冻阶段形成的结构。坍塌与回融会引起部分干饼溶解缓慢，延长完全溶解的时间。物料的聚合、肽或蛋白质形成聚集体，或脂质体的偶合与成簇都会引起在复溶时溶液的浑浊或物料的不可溶。图 6 中发现的难溶物或溶解不完全的溶液通常表明产品中发生了相当程度的物理化学变化。复溶的终点是形成澄明的溶液，不会比所用的稀释剂更混浊。



图 6 复溶后的溶液

残留水分的允许范围应与长期储存稳定性相关，在开发阶段就必须确定。通过除去任何可测定的水分来防止水解引起的降解，这些水分会参加存储期间的化学反应。开发阶段就对干燥状态进行了稳定性的评价。干燥品的残留水分取决于二次干燥时的解吸附程度。解吸附速率主要受产品温度和二次干燥时间的影响。在制备大批量样品时，残留水分达到开发阶段确立的可接受范围，并与工艺条件相关联，证明所需的解吸附时间是合适的。

工艺开发的考虑

在产品和工艺开发过程中，关于合适的生产操作通常会有许多不了解。为了制备临床样品，产品可能在本公司或在合同工厂生产。商业规模的生产有多种可能性：产品可能整合进现有的本公司生产，在一个还未确定的合同工

厂生产，或者新产品可以要求现有操作的扩大或新工厂的建造。在产品和工艺开发进行中，指导方向可能不是很明确。这种情况下，确定最适合大规模生产的工艺时，需要在选择参数时有一些设想和远见。生产场所不管是已知的或有待确认的，除非产品有特殊需求，设计一个可靠的工艺会增加技术转移的成功性。

为了使工艺与常规生产相适应，对现存生产操作能力的理解能提供有价值的远见、指导，并集中于开发研究。有了这些理解，在开发时就能研究适合于现有生产操作的制备工序的范围与参数。如果没有，对于生产操作典型能力的类似也是有帮助的。在商业生产所需的操作进行按计划放大时，开发部门、工程部门和操作人员之间时常会询问关于生产能力的“你需要什么”、“你可以提供什么”之类的问题。为了使其完善和全面，本文主要的观点是开发和扩大现有规模的操作。这样至少对规模扩大中感兴趣的话题进行全面的介绍。意识到现有的操作不限于关键的产品和工艺需求也是很重要的。如在处方中使用有机溶剂可以改进产品的结构或加工速度<sup>[15,16]</sup>。在这种情况下，要权衡产品稳定性需求和对工艺的影响，以决定开发方向。认识到任何操作的现有能力不应该抑制生产技术中有创造性的和有益的改进也是非常重要的。

首次开发时试图需要谨慎地使产品和制备方法适合现存的操作能力。首先需要寻找的资料来源是冻干机的操作认证（operational qualification, OQ）数据，它确定了冻干机的能力与表现。表 6 概括了人们感兴趣的性能，允许对设备功能和表现进行充分的评价。

表 6 操作认证研究的性能

搁板温度			
范围	低	高	
速率	冷却	加热	
控制	低	中等	高
均匀度	低	中等	高
箱体压力			
范围	低	高	
控制	低	中等	高
升华/凝结速率			
搁板设定值			
箱体压力设定值			
达到设定速率			
总的冰升华/凝结			

隔板温度对于生产速度和完成每一步后的最终的产品温度有很大影响。可达到的搁板温度范围从冷冻的最低温度到一次和二次干燥的最热温度。整个过程中快速的冷冻与加热反映搁板温度的最剧烈的变化。控制能力包括控制于特定温度时的变化以及以任何设定值的偏差。这种能力也受到温度探头的类型与位置的影响。搁板温度的差异影响到整批产品的均匀性，低温冷冻很重要，一次干燥需要中等的温度，而二次干燥需要较高的温度。

## L

在不受控制的情况下,箱体压力反映出产品中冰升华转化为水蒸气经凝结器后又转化为冰。箱体压力对产品温度有极大影响。对于含蔗糖的处方,相转化和坍塌温度为 $-32^{\circ}\text{C}$ ,适宜的压力低达 $60\mu\text{mHg}$ 。对于相转变温度较高的产品,如含有易于结晶的甘露醇的处方,共熔点为 $-2.6^{\circ}\text{C}$ ,可以在 $400\mu\text{mHg}$ 的压力下制备。如前所述,制药工业在一次干燥时,广泛采用控制箱体压力的方法已经有20多年了。而在二次干燥时对箱体压力加以控制的效果和益处还是有一些争议。

一般有三种方法控制箱体压力,包括在产品箱体内注入氮气、将空气或氮气注入真空泵的进口、关闭箱体与冷凝器或冷凝器与真空泵的阀门来减少水蒸气的流动。普遍推荐使用的控制箱体压力的方法是将过滤的氮气通过比例阀引入箱体。注入箱体后氮气的状态,与其他方法相比对一次干燥时升华速度的相对影响、对二次干燥时解吸附的影响及对在冷凝器表面水蒸气转化为冰的影响,当采用不同的方法对压力进行控制时都需要加以考虑。

升华与冷凝速率的研究是完整OQ的一部分,并且反应设备完成一次干燥的能力。在恒定的搁板温度和箱体压力下,冰从搁板升华然后在冷凝器收集的量,反映了在加样的环境中设备的性能。这种速度反映了搁板和热传递系统的能力,可以为升华提供足够的热量。相应的水蒸气量的增加对冷凝器的效果和能力是一种挑战。升华和冷凝的冰的量反映了冷凝器的捕捉速度和容量。由搁板升华的冰反映给产品供热的能力。当比较各层搁板的速度时,升华的冰的量也可以表示均匀性。在蒸汽从产品中转化到冷凝

器中时,箱体与冷凝器之间的压差反映出由于设备配置而对水蒸气流的抑制情况。冷凝器收集的冰的量是对捕获和除水的效率及保持冰的能力的一种衡量。因此升华和冷凝速度的研究在评价设备能力,获得冻干机达到的所需的工艺参数的可信性方面是非常有用的。

对于大规模生产,冷冻机的能力达到工艺参数的范围,因此可提供工艺开发研究指导。对于透明的规模扩大,在实验室研究的参数需要在已知的生产设备可知操作能力范围内。在工艺开发时,将研究的参数控制在较大的生产单元的生产能力范围内,当在生产环境中扩大生产批量时,可以避免对工艺的调整。

生产中大规模制造的验证数据对于制备能力和表现也是有用的信息。其他产品的一些以往的生产经验提供了常规生产时每批之间的变化程度。这包括对生产能力和成品性质的评价。控制水平、重复性和成品的一致性,可用于放样时评估能力和预计的结果。批均匀性和验证研究中冷冻机中的不同位置引起的差异也是有用的信息。Greiff研究了环境影响及其对搁板上不同位置的升华速率的影响<sup>[17]</sup>。为了包含该变量,需要足够大批量的产品来评价这种影响。由于在开发研究中,原料药的供应有限,大批量的产品由只灌装辅料的药瓶组成,或采用替代的处方。意识到开发研究时的瓶数较少,对制备中均匀性状态和成品特性进行评价,能预见大批量时的差异。

冷冻时成核和冰晶生长会严重影响制备中产品的均匀性和成品的一致性。基于概率的成核随机性,以及随后的冰晶生长,会显著地影响当冷冻时完成固化以及干燥时的

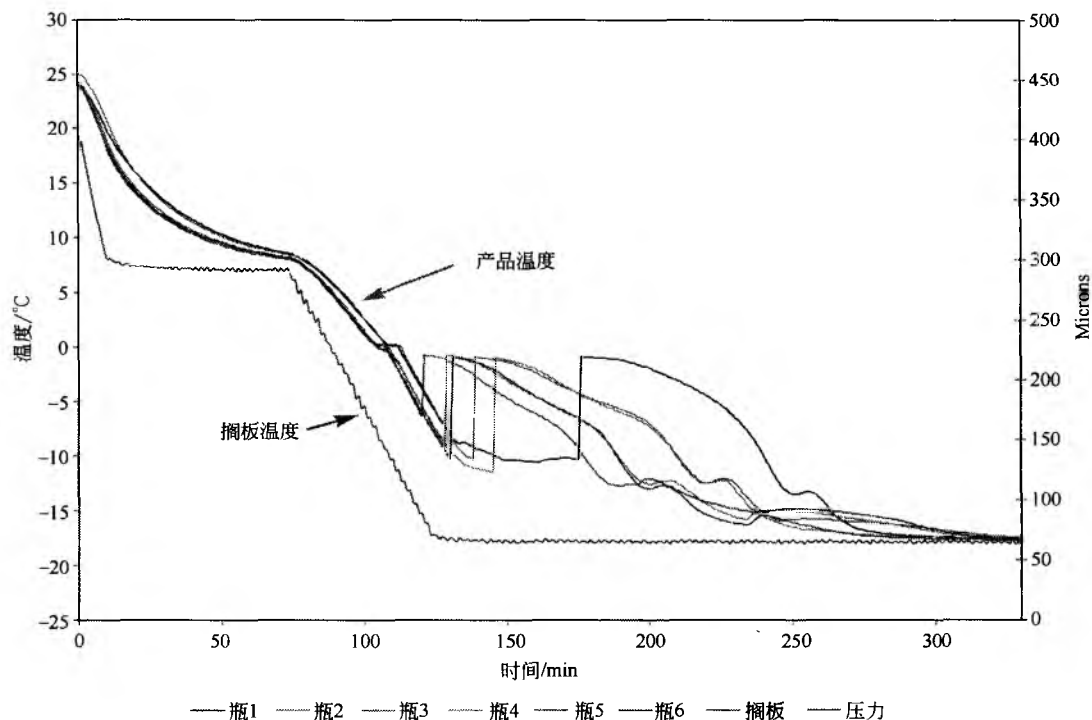


图7 同一批中数瓶内成核和冰晶生长的时间和温度差异

产品温度。图7反映出在小批量生产中,数量有限的药瓶中成核发生时,时间与温度的分布,将标准的热电偶小心置于瓶底的中间部位进行监测。应注意到所监测的瓶中几秒钟的温度升高及后来的温度升高反映出相邻的瓶中的成核和冰晶成长。没有热电偶的瓶中水分固化的延缓,表明过冷的程度更高,从而表现出较小的冰晶的相关性质。这

种差异在任何一批产品的任一组药瓶中都会发生。这些在一组药瓶中的成核变化可以由同一批的产品来证明,因此任何一批都有可能。在采用相同的工艺参数制备的多批产品中,当比较其中出现的成核和冰晶生长情况时,这种变化是很明显的。图8是同样的冷冻工艺参数制备的4批模型样品的差异情况。

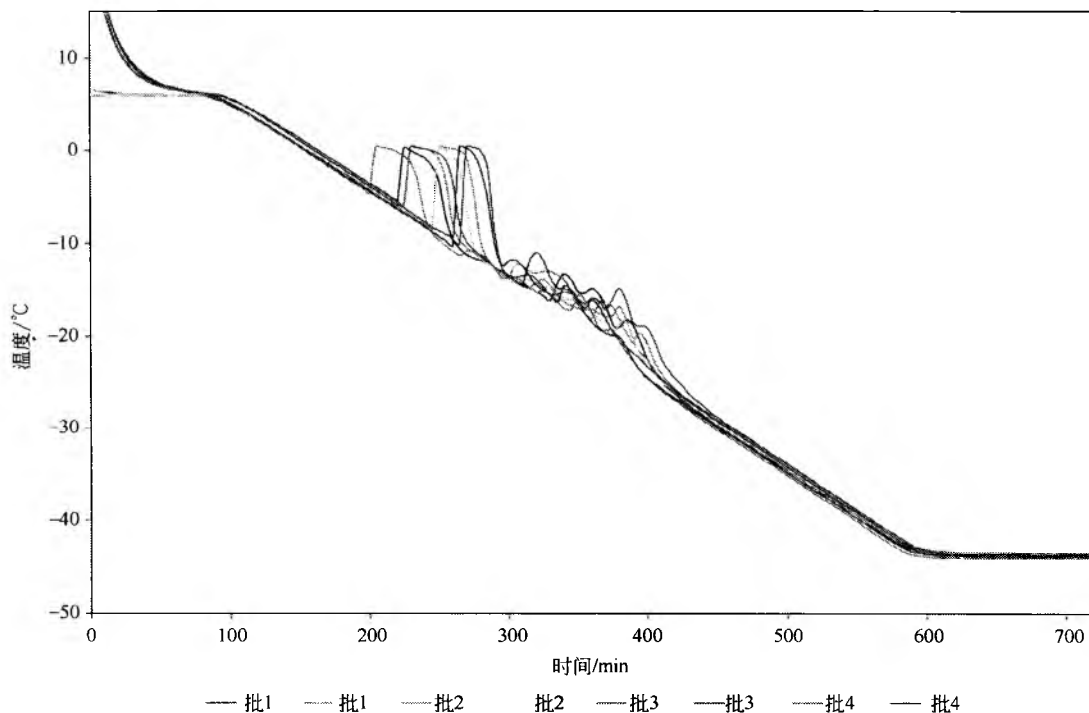


图8 多批中数瓶内成核和冰晶生长的时间和温度差异

产品温度的变化在冷冻干燥的一次干燥阶段同样会发生,反映出在冷冻干燥时通常要考虑的瓶与瓶之间的差异。因为冰晶决定了留下的溶质的表面积,也会影响二次干燥时除去残留水分的容易程度。对于与图7同一批的产品,因成核的差异,干燥时产品温度也会有所不同,如图9显示的温度变化曲线。即使在非常仔细控制的实验室条件下,这种瓶与瓶之间的差异也会发生。这种情况同样会发生在常规生产中,在开发工艺确定参数时需要重视。因此工艺足够稳定是绝对必要的,以适应同一批产品或不同批产品间的内在差异。

对常规生产时的设备能力数据和验证的经验进行汇总,可以为工艺开发中研究参数的选择提供一个框架。将参数控制在生产设备的能力范围内,可以在扩大规模时工艺调整和连续开发减到最小。在开发时的工艺设计中,需要考虑在大型的冷冻机和常规的生产中,合适的工艺参数能适应各种变化。要意识到在大部分的产品生命周期中,产品与工艺是存在于生产环境中的,开发研究的目的是建立一种工艺,在扩大规模时,易于整合进生产操作中。

## 设备的影响

当新产品整合进现有的生产操作中,工艺参数需要在生产设备的能力范围内,因此需要对开发时及生产时的设备能力做一些评价。包括设备的设计和构造,关键工艺参数的控制和操作能力。理解实施所需的工艺条件时,开发和生产设备的功能和产量,是将工艺从一个操作转化至另一个的第一步。

在生产场所确定之前就完成工艺开发是很正常的。因此,确定生产时使用的合适的工艺参数可能是没有用的。从生产角度来看,对于研究用冷冻机的制备能力和实际使用的参数,以及产品经历的任何工艺条件的差别都是需要小心理解。例如,如果开发研究不加控制,冷却和加热速度会有差异,差异取决于单元制造商、设备组件的构造和冻干机的能力。转移工艺时,开发时指定的工艺条件需要在常规生产时进行重复。表5列出了开发单元需要重点评价的典型能力,这些评价与大规模生产设备的评价相同。其他需要考虑的是工艺控制和监测所用的仪器及方法。一

个合适的生产用冻干机将电阻型热电偶 (RTD) 放在套管中, 并置于正要进入箱体的热传导流中, 作为搁板温度的控制点。控制时这个位置是最有效的, 能适应设备动力学、工艺的变化和热装载的差异, 提供最一致的测量。研究单元可能将温度传感器置于不同位置或用不同的方法, 监测

和控制搁板, 并实现温度控制。这种差异的影响是控制水平以及对实际搁板温度的补偿。例如, 热电偶位于热传导流储罐中, 该储罐位于压缩机的热交换器和加热器的上游, 反映出不同的动力学, 因而有不同的搁板温度。

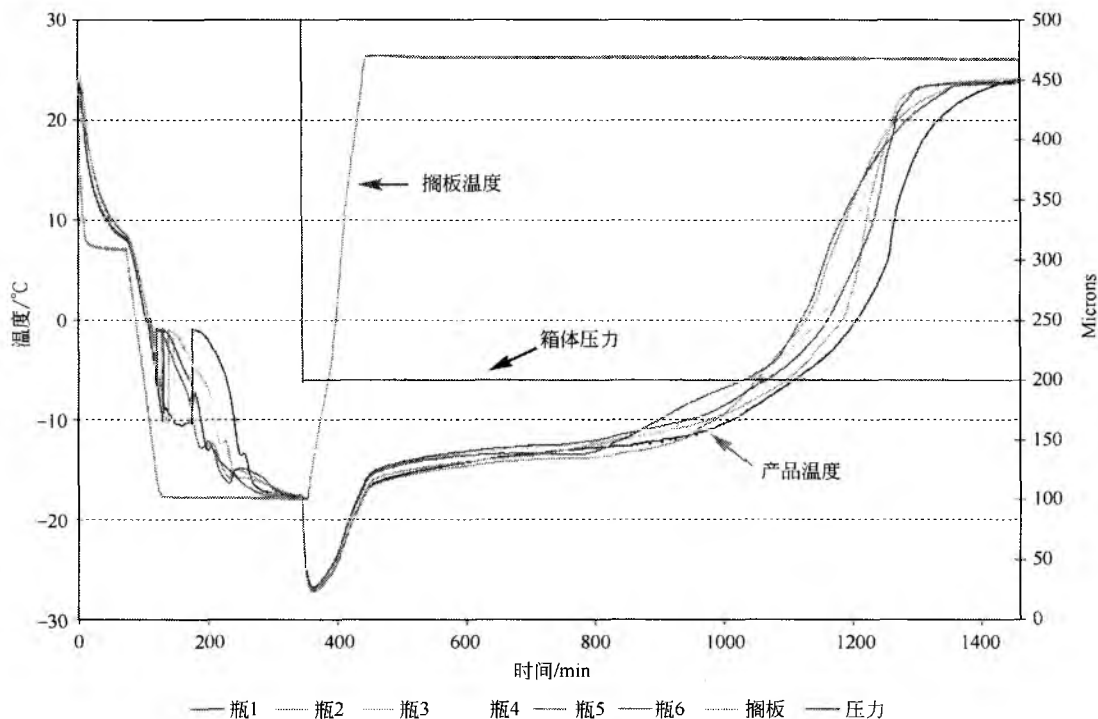


图9 同一批中数瓶的行为差异

第二个主要的变量是压力测量的方法。研究单元通常使用导热型的压力仪器来监测箱体压力, 这些仪器设计用来测量减压下进行的工艺, 如电子工业。这些仪器测量冻干机内大气的传热差异。对于理想气体公式  $PV=nRT$ , 随着  $n$ , 即分子数的减少, 分子密度即, 单位体积所含的分子数量均会减少, 压力降低, 而其他变量为常数。随着分子密度的降低, 大气传热性减弱, 可以校正为压力。由于这些仪器是用氮气进行校正的, 氮气是大气的主要成分, 当测量不同的气体, 如含水蒸气的气体压力时, 这种类型的仪器会显示出不同的压力。当气体组成变化时这类仪器易于出错。一次干燥时的升华使箱体中气体中含有高比例的水蒸气, 导致测量的误差达到 60%。

传感器的位置也会对指示的压力有影响。必须监测和控制产品暴露于其中的环境的压力。因此, 传感器需要置于产品箱体内。如果传感器位于冷凝管道或通向真空泵的管道中, 那么测得的压力就不能真实反映出冰升华产生的水蒸气的量的影响。研究型冻干机有时会将压力传感器置于真空管中, 实际读取的是泵而不是箱体的压力。

## 实施放样的内容

成功地进行技术转移, 实现预定的工艺条件和预期的

成品质量, 需要对生产容量与能力的了解, 需要稳定生产的合适工艺条件及对物料和工艺条件的仔细控制。在开发时获得对产品与工艺的足够了解, 可以防止把放样变成开发阶段。大批量的生产提供了一个机会, 以验证那些在开发阶段所确立的工艺参数的稳定性, 集中评价大批量生产的成品的状态分布和质量均匀性。

完整的全面的开发报告对于技术转移是极有价值的。该文件保留了在产品开发和工艺开发中获得的经验和知识, 包括 API 的性质、处方、概述部分介绍的成品等资料, 是全面的开发报告的一部分。另外, 在初期制备临床样品的放样过程中获得的知识和经验也是很珍贵的。预期的状态、成品的性质及放样中遇到的任何困难, 均给常规大批量生产提供了有用的资料。

现实中开发和大规模生产的条件 and 产品间存在细微的差别。在生产环境中制备产品的影响以及成品数量的增加, 两者一起成为主要的因素。批规模和批产品数量与大规模生产相比非常小。开发研究和早期的临床生产需要相对较小的批规模。同样, 如果产生影响的发生概率是千分之一, 对于一批只有数百瓶的规模来说, 产生影响只是偶尔能观察到的或是偶然的结果。如果发生概率是数千分之一, 只有在大规模生产时才会明显发生。由于生产批规模接近数



十万瓶是很常见的,所以在统计学上的小概率事件对成品影响很大。

仅仅由于成品的量大,变量的统计分布也会成为影响因素。这一因素单独的影响很少或无影响,集中起来可能有协同作用,放样的结果可能会与以前的所有结果均不一致。即使存在难以预见的因素或影响,成功的放样,主要取决于开发阶段的知识和准备,以及制备临床样品时进行的一步一步地改进,最终将新产品引入为上市而进行的常规生产。

冷冻干燥工艺放样时,关键的工艺参数如板层温度、箱体压力和时间应与开发阶段确定的和大型冻干机准备采用的参数相比较。可以预计到一些由于大尺寸和大容量设备的动力学所引起的合理的变化。例如,在改变工艺参数时,开始会有短时间的过冲。这是典型的比例控制,这种控制下,只有达到设定点的恒定控制,其振荡的幅度与频率才会有所减少。比例控制用于板层温度和箱体压力的控制。在降温完成后在设定点控制搁板温度,或改变箱体压力控制,如一次干燥转为二次干燥时,可以观察到这些振荡。如果振荡的幅度和持续时间都很小,那对产品的温度的影响也很小。产品在冷冻和干燥时也会表现出不同的状态。产品温度传感器的摆放是一个主要影响。在开发实验条件下精确的摆放相对容易实现。加工无菌产品时的无菌技术限制了将传感器置入瓶中所必需的操作。尽管有放置的差异,制备过程中最关键的时间里也可以保证精确的温度值,如进箱完成、冷冻,一次和二次干燥。在进行下一步以前,需要证实产品在每一步最后达到了关键的温度以保证工艺条件合适。证实产品在相转变温度以下冻结,并维持在开发时确定的阈值温度以下,是批量放大时评价产品温度曲线的一个重要的指标。

生产中无菌产品的状态也会受到无菌工艺所需的条件的影响。通常在开发环境的实验室条件下制备的样品与生产环境下制备的样品的制备方法不同。例如,清洁程度和生物负载量会不同。产品特性,如成核及冰晶成长,会在不同的温度以不同的速率发生。如前所述,这会对制备中产品的状态和成品的性质有所影响。

要证实工艺条件是合适的并且在合理的范围内,必须评价成品的性质并与预期的结果进行比较。与冻干制剂相关的性质如物理外观、复溶与残留水分需要评价,并比较开发研究时和生产环境下的差异。此外,效价和纯度,以及那些与冻干剂型所特有的性质,要与在开发时建立的并在临床研究时改进的质量标准进行比较。

制备大批量的样品提供了一个评价制备能力的机会。除了可以评价在生产环境中工艺条件和成品性质,大批量也提供了在大规模生产的情况下对制备动力学和成品的评价机会。与常规生产时相对有限的数量的样品相比,在初期放样时需要小心评价大量的样品。对于大量的样品,统计学方法提供了更大的手段来定量产品性质和质量特性的变化。Kieffer 和 Torbeck 提出了一个方法,如何在规模扩大到大批量时采用一步一步流程法进行统计评价,以研究

工艺能力时确定样本数和统计方法<sup>[18]</sup>。在制备大批量样品时,工艺条件的可重复性与批均匀性评价相关联。这可能包括大量成品中的随机取样,使用统计学方法来比较一些预期分布的结果。使用统计学方法对每一批的放样,以及批与批间的结果的评价提供了更定量的结果。在产品走向商业生产时,这会提供一个更高可程度的保证。

## 结论

规模扩大的容易程度和成功取决于从开始开发时获得的知识和经验。从开发、经过临床研究、最后到商业化大规模生产,放样发生多次。在此过程中,常常要对产品和工艺进行改进。初始的物料应进行很好的定性,包括原料药的质量和纯度、原料药的调整、处方中辅料的浓度以及容器胶塞部件。需要很好地确定批生产的要求和任何产品的敏感度以保证初始溶液的质量。一个足够稳定的工艺,应该确定理想条件下的目标参数,以及可以接受的边界条件范围,必须在生产环境中易于实施。

大量成品的变量的统计学分布,可能会成为一个重要的影响因素。这个因素可能是复合的,任何单一因素可能只有很少或没有影响。组合起来有协同效应,规模扩大的生产结果可能会超越以往的经验。成功的程度,即使当批量增加进行大规模生产时可能有预见不到的因素和影响,也主要取决于在开发阶段的知识和准备的程度。这也会受到在制备临床样品以及直到将新产品引入规模生产的各步骤,所进行的改进的程度的影响。

## 参考文献

1. DeLuca, P. P. Freeze-Drying Pharmaceuticals and Biologicals. In Pharm Tech Conference Proceedings; Advanstar Communications; Cleveland, 1984; 184—194.
2. Pikal, M. J.; Shah, S.; Senior, D.; Lang, J. E. Physical chemistry of freeze-drying: Measurement of sublimation rates for frozen aqueous solutions by a microbalance technique. *J. Pharm. Sci.* 1983, 72 (6), 635—650.
3. Rowe, T. W. Freeze Drying of Biological Materials; Some Physical and Engineering Aspects. In *Current Trends in Cryobiology*; Smith, A. U., Ed.; Plenum Press; New York, 1970; 60—138.
4. MacKenzie, A. P. The physico-chemical basis of the freeze drying process. *Dev. Biol.* 1976, 36, 51—67.
5. Pikal, M. J.; Roy, M. L.; Shah, S. Heat and mass transfer in vial freeze drying of pharmaceuticals: Role of the vial. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73, 1224—1237.
6. Nail, S. L.; Gatlin, L. A. Freeze Drying; Principles and Practice. In *Pharmaceutical Dosage Forms; Parenteral Medications*, 2nd Ed.; Avis, K. E., Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1993; Vol. 2, 163—234.



L

7. Pikal, M. J. Freeze drying of proteins; Part I. Process design. *Biopharm* 1990, 3 (9), 18—27.
8. Nail, S. L. The effect of chamber pressure on heat transfer in the freeze drying of parenteral solutions. *J. Parenter. Drug Assoc.* 1980, 34 (5), 358—368.
9. Pikal, M. J.; Roy, M. L.; Shah, S. Mass and heat transfer in vial freeze-drying of pharmaceuticals: Role of the vial. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73 (9), 1224—1237.
10. Pikal, M. J.; Shah, S.; Roy, M. L.; Putman, R. The secondary drying stage of freeze drying: Drying kinetics as a function of temperature and chamber pressure. *Int. J. Pharm.* 1990, 60, 203—217.
11. Trappler, E. H. Validation of Lyophilization. In *Validation of Pharmaceutical Processes: Sterile Products*, 2nd Ed.; Carleton, F. J., Agalloco, J. P., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 721—750.
12. Daukas, L. A.; Trappler, E. H. Assessing the quality of lyophilized parenterals. *Pharm. Cosmet. Qual.* 1998, 2 (5), 21—25.
13. MacKenzie, A. P. Collapse During Freeze Drying—Qualitative and Quantitative Aspects. In *Freeze Drying and Advanced Food Technology*; Goldblith, W. A., Rey, L., Rothmayer, W. W., Eds.; Academic Press: New York, 1975; 278—307.
14. Searles, J. A.; Carpenter, J. F.; Randolph, T. W. Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freezing-induced drying rate heterogeneity, and determine  $T_g'$  in pharmaceutical lyophilization. *J. Pharm. Sci.* 2001, 90 (7), 872—887.
15. Seager, H.; Taskis, C. B.; Syrop, M.; Lee, T. J. Structure of products prepared by freeze-drying solutions containing organic solvents. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1985, 39 (4), 161—179.
16. Kasraian, K.; DeLuca, P. Effect of tert-butyl alcohol on the resistance of the dry product layer during primary drying. *Pharm. Res.* 1995, 12 (4), 491—495.
17. Greiff, D. Factors affecting the statistical parameters and patterns of distribution of residual moistures in arrays of samples following lyophilization. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1990, 44 (3), 118—129.
18. Kieffer, R.; Torbeck, L. Validation and process capability. *Pharm. Technol.* 1996, 22 (6), 66—76.

(裴 渊 译)

# 冷却工艺和冻结技术

Richard Turton

West Virginia University, Morgantown, West Virginia, U. S. A.

Xiu Xiu Cheng

Andrx Pharmaceuticals, Inc., Fort Lauderdale, Florida, U. S. A.

## 引言

本章的目的是介绍制药工业中冷却和冻结技术的主要概念和应用。冷却和冻结工艺必须跟在与熔融相关的工艺之后。熔融-冻结技术应用在蜡基质的栓剂制造中已经有100多年了。在过去的40年里,其新的应用发展很快,以满足人们要求提高水难溶性药物的溶解度和生物利用度,并制备缓控释药品的需要。固体分散技术、骨架片和包衣的载药小丸是一些常见的例子。制备固体分散体的方法之一就是熔融-凝结法。以固体基质制备水难溶性药物的固体分散体的概念和所需工艺要归功于Sekiguchi和Obi在1961年的工作<sup>[1]</sup>。他们将磺胺噻唑-尿素混合物在其共熔温度以上熔化,然后在冰浴中进行固化分散,再将其研磨成粉末。该工艺的改进之一是喷雾-凝结法,从改进的喷雾干燥机喷至有涂层的金属表面,并将其用于制备含甘露醇的分散体<sup>[2]</sup>。热熔法包衣和制粒工艺也用于蜡质包衣或蜡基质骨架缓释产品的开发中。

本章介绍了使用熔融-冻结工艺的典型系统、设备和重要的操作变量、典型的基质材料、重要的工艺因素,以及使用这些系统的优缺点。

## 重要概念

许多综述和更多的研究报道涉及使用该系统冻结和冷却固体混合物或溶液,以生产速释和缓释制剂。有许多理由让我们来使用这种系统。在制剂生产中冻结固体的用途概况如图1所示。由此可见,可冻结固体在控制活性成分的释放速率方面起着积极的作用,它也可以只是一个美化外观的物质。



图1 制剂中使用冻结固体的概况

当冻结固体的作用是延缓药物的释放,冻结的固体就可以作为包衣材料包裹在含活性物质的底物外面,如含药的扁圆块。此时可以使用典型的包衣设备,如流化床和包衣锅。此外,冻结固体可以是含药基质的一部分,胃液可以渗透或可以溶蚀该基质。此时,可使用各种方法制备剂型,如液态(熔融态)的喷雾冻结、使用高剪切造粒机造粒、使用双螺旋挤出机挤出等。

当生产目的是增加药物的溶出速率时,药物通常被分散在可冻结固体的基质中。该工艺的第一步是将溶液或药物均匀分散在熔化载体中。接着,将该混合物加以冷却和固化,得到的固体形成了一种固体基质,药物在其中极好地分散。用该方法制备的固体分散体,药物能以分子水平分散。由于增加了药物的表面积,即使是极难溶的药物的溶出速率都能有明显的提高。喷雾-冻结法和熔融-制粒法通常用于制备这类产品。

使用冻结固体作为掩味剂或达到美化外观的目的在文献中也有报道。美化外观通常采用包衣工艺,但掩味可采用包衣和药物载体基质处方。

### 1. 药物在载体中分散的形式

制备药物在载体中的分散体的一个重要原因是为了增加水难溶性药物的溶解度。活性成分在一种合适的基质或载体中分散为药物提供了很大的、充分暴露的表面积,可以弥补药物水溶性上的不足。原则上,大的表面积可以通过将药物很好地研磨(微粉化),随后将药物分散在载体中来获得。但是,由于极细颗粒具有内聚性,微粉化药物在载体中的有效分散是存在问题的,从而导致药物分布不均匀,释放特征不理想。尽管有这些不足,但是将含药物细粉的分散体或浆料的液态载体进行快速冷却和冷冻的工艺还在使用,药物和熔融的基质一起进行熔融制粒的工艺也是如此。另一个途径是将药物溶解在液态载体中,然后快速冷却和凝结,所得的固体中的药物粒子,在固化的基质载体中以分子水平或接近于分子水平分散。很明显,该工艺是有效且优先选用的,因为药物溶解在熔融基质中,可以实现药物溶出速率的显著提高。应该指出,药物和载体的性质、相互作用、冷却和冻结速率,以及最终剂型的储存环境都对成品的性能产生重要影响。所有这些因素在以下部分将进行详述。接下来介绍用相图描述不同的药物-载体两相系统的行为。

## 2. 相图

作为液-固相图的一个例子，我们可以考虑水杨酸苯酯-麝香草酚体系，如图 2 所示<sup>[3]</sup>。该体系代表一种简单的共熔体。其中，两种成分在液相完全混溶，在固相完全不混溶。从图 2 我们看到，相图被分为 4 个区。在 1 区，两种成分以液体溶液的形态存在；在 2 区和 3 区，两种成分以液体溶液与固体成分平衡的状态存在；在 4 区，两种成分以固体的形态存在。每一区的边界表示一条平衡线。例如，对于水杨酸苯酯-麝香草酚体系，含 64% (w/w) 麝香草酚在温度 48℃ 时，以点 A 在相图上表示。如果我们缓慢地冷却该溶液（压力不变），然后在大约 30℃（点 B）时我们将看到第一个纯的、固态的麝香草酚晶体析出。如果我们进一步冷却该混合物，纯的麝香草酚将继续结晶，并且在最后的液体溶液中将不含麝香草酚。在大约 20℃ 时，在 C 点处，最后的液体溶液与纯的麝香草酚达到平衡（D 点），其组成为含 48% (w/w) 的麝香草酚，以 E 点表示。继续冷却将到 F 点，此处的溶液组成如 G 点表示，它是共熔组分。进一步冷却超出 G 点到达 H 点，如形成两个固相，即纯的水杨酸苯酯（I 点）和纯的麝香草酚（J 点）。如果我们重复该冷却过程，但是以液体溶液的组成在共熔点 G 的左边开始，冷却过程中相转变是相似的，但纯的水杨酸苯酯将结晶，余下的溶液中将不含水杨酸苯酯。该溶液的组成将向右移动，当温度到达 13℃ 时，逐渐到达共熔组分的 G 点。进一步冷却将产生两个固相，即纯的水杨酸苯酯和纯的麝香草酚。只有在共熔点 G，麝香草酚和水杨酸苯酯的液体溶液与两个纯的固体才达到平衡点。考虑在平衡体系中的吉布斯相定律，即

$$F=2+C-P \quad (1)$$

在共熔状态下的麝香草酚和水杨酸苯酯系统中，存在三相（ $P=3$ ）和两种成分（ $C=2$ ），因此自由度为 1（ $F=1$ ）。对于图 2 的系统，系统的压力固定，为唯一的一个自由度。所以，对于这样一个已知压力的系统，只存在一个单一温度 13℃，此时形成共熔体。

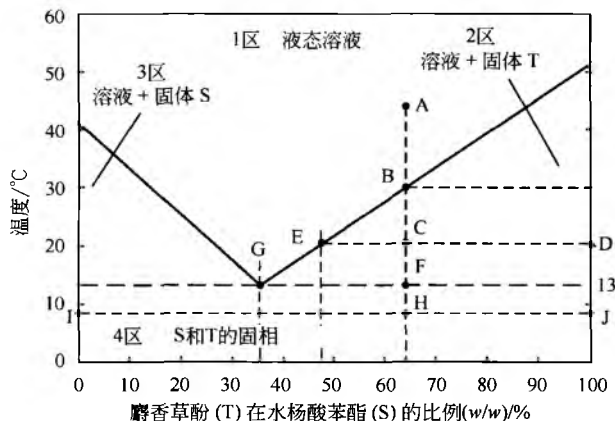


图 2 水杨酸苯酯-麝香草酚体系的相图<sup>[30]</sup>

麝香草酚和水杨酸苯酯体系是一个例子，当溶液快速冷却时，可以形成固体分散体。该固体分散体的组成为初晶分散体，或者是一种成分分散在另一种成分中的混合物。两个固体相相互分散的均匀性对于系统的溶解行为很重要。如果所有其他因素是相同的，那么分散越均匀，溶解就越快和越可重现。应该注意，只有当系统处于平衡态时，图 2 给出的信息才是精确的。在任何生产工艺中最常见的条件总是不能提供平衡。事实上，快速冷却溶液的想法将必然在液体中导致产生的温度和浓度梯度，使冻结速率有明显不同。液体的冷却和增稠（黏度增加）使结晶陷在基质中，并倾向于在基质中的扩散和迁移最小。这会有另一种效果，即能阻止晶体的聚合以及保持药物的良好分散状态。因此，在利用该技术制备控释性能良好的剂型时，冻结设备的设计很重要。从图 2 清楚地发现，快速冷却具有共熔组分的溶液，能得到分散很好的固体分散体，并只需要最少的冷却量。然而，最终剂型所载的药物，与其他因素一起，常会利用其他液体组分。阻止共熔混合物的凝结。在共熔混合物中，固相内相互溶解度可忽略的固体分散体是不常见的。Ford<sup>[4]</sup>给出了一些例子，Goldberg 给出了扑热息痛-尿素<sup>[5]</sup>、灰黄霉素-琥珀酸<sup>[6]</sup>，Chiou<sup>[7]</sup>给出了灰黄霉素-PEG 4000 和 6000 的例子。

另一种形式的固体分散体是固态溶液，形成固态溶液的两物质（X 和 Y）的相图不同于前面讨论的，该系统的一个例子如图 3 所示<sup>[8]</sup>。在该体系中，两种物质（药物和载体）在固相相互有有限的溶解度。考虑 A 点所示的组成和温度的液体的冷却。当液体冷却时，将到达平衡线的 B 点，在该点将形成固相最初的结晶。固相（ $\alpha$ ）的组成为 C 点，为 X 和 Y 的固体混合物。与该固体平衡的液体组成为 D 点。继续冷却，更多的固体将从溶液中结晶出来，并且在此过程中液体溶液和固体的组成在不断发生变化。在 E 点达到共熔温度。冷却到共熔温度以下时，两固相从溶液中结晶出。两相的组成由恒温线的终点（点 F 和点 G）确定，该两固相与余下的共熔溶液处于平衡状态。与图 2 所示的简单系统一致，该系统有一个唯一的共熔温度，此时液体相和两固相共存。然而，与简单系统不同，固相的组成将随温度的改变而发生变化。

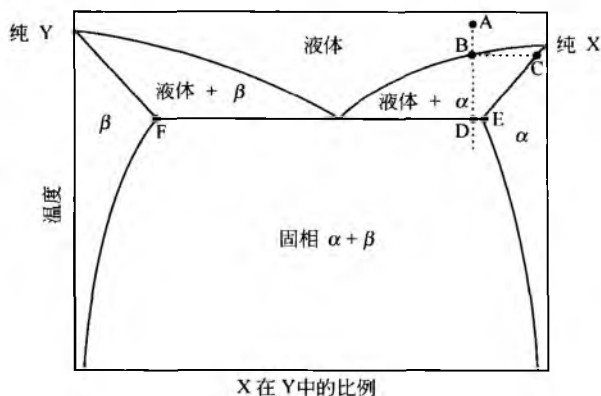


图 3 两组分 X 和 Y 的相图，X 和 Y 在液相时相溶，在固相时互溶<sup>[8]</sup>

由于药物和载体的相互作用,也会存在其他结构。Ford<sup>[4]</sup>描述了如下系统:玻璃溶液和玻璃混悬液,在结晶载体中的无定形沉淀物,形成化合物或复合物,以及这些系统的组合。

## 常用的载体/赋形剂

### 1. 所期望的载体性质

可冻结载体的性质明显控制着药物从剂型中的释放。Ford<sup>[4]</sup>和 Achanta<sup>[9]</sup>已进行过综述,对载体的性质做了对比,概括如下。对于热熔包衣, Achanta<sup>[9]</sup>对理想的包衣材料的特性提出了如下的想法:

- 它在 200℃ 以下是稳定的;
- 其熔点范围为 75~80℃;
- 具有窄的熔程,并在熔化前不会软化;
- 在 30~200℃ 的范围内其热行为不依赖其热历史、制备方法和存储方法;
- 当温度超过 200℃ 时,结晶不会发生改变;
- 热循环时也是稳定的;
- 具有低的熔融黏度以方便流动和喷雾制备。

这些性质实际上确保了包衣材料在通常的包衣条件下是稳定的(第 4~6 条),使不希望产生的聚集降到最低(第 3 条);能很容易地进行喷雾(第 7 条);操作温度可以调节以便使药物降解发生的可能性最低(第 1 条和第 2 条)。除了这些性质外,包衣材料明显不应该与药物发生作用或影响药物的生物利用度。

对于通过凝结水不溶性药物和载体的熔融物制备固体分散体, Ford<sup>[4]</sup>推荐以下理想的载体材料特性:

- 水中易溶,具有内在的快速溶解特点。
- 没有毒性。
- 在化学、物理和热力学性质上是稳定的,熔点低。当熔融物凝固时,应快速结晶并能维持药物良好的结晶态分散体。载体和药物在液体中是可以混溶的,以避免不规则结晶的产生和因此导致的溶解速率的改变。
- 载体最好能增加药物的水中溶解度。
- 载体与药物不形成稳定的复合物,以免阻止药物的溶解。
- 载体应该是药理惰性的。

这些特性能够确保,当凝固时,药物能以大的表面积很好地分散,以利于溶解(第 3 条);载体不会阻止药物的溶解过程或效果(第 1、3~5 条);载体是惰性的(第 1 条和第 6 条)。此外,所有的载体和赋形剂应该在法规上是允许药用的。

制备水溶性药物的缓释骨架片时,熔融-凝结法所用的载体与热熔包衣和固体分散制备所用的载体的一些性质相同。然而,它们的熔点大多在 50~85℃。

### 2. 合适的商业赋形剂

一般来说,无法获得理想的载体或包衣材料,因此不

得不做一些妥协。也许与使用这些载体材料有关的一些最重要和最普遍的问题,是它们在凝结过程中容易形成多晶态结晶。此外,还有因储存中结晶结构的变化而引起溶出行为的变化。这些结晶变化的问题将在下面进行详述。

通常,用作载体和包衣材料的凝结固体已经由 Ford<sup>[4]</sup>和 Achanta<sup>[9]</sup>概括如下:

**柠檬酸和琥珀酸:**柠檬酸用于固体分散体的制备,是因为它具有易溶于水和形成玻璃态的能力。一水合物在约 100℃ 时熔融,而无水物在约 153℃ 时熔融。在较高的温度下,药物降解可能性很大,因为一水合物中的结晶水会释放,从而会影响湿度敏感的药物。

**胆酸、胆固醇和酯:**许多这类化合物有很高的熔点,使它们不适合融化使用。例外的是 Froemming 和 Vetter<sup>[10]</sup>,报道用熔融-冻结技术制备的水杨酸-胆酸系统,该系统在酸性介质中(pH 1~3.5)可提供缓释效果。

**糖类:**作为熔融-冻结工艺的候选物考虑时,许多糖类有过高的熔点。然而,已有文献报道使用其中的一些糖。Sirenus 等<sup>[11]</sup>证实了在利尿药氢氯噻嗪的制剂中木糖醇的用途;Hirasawa 等<sup>[12]</sup>使用乳糖作为载体,通过熔融和以液氮快速冷却的方法制备了萘普生固体分散体;Danjo 等<sup>[13]</sup>使用乳糖、麦芽糖、半乳糖、甘露醇等糖类作为载体,通过熔融和快速液氮冷却制备了乙水杨胺的固体分散体,并发现由无定形的乳糖制备的固体分散体比其他糖类制备的分散体更稳定。

**尿素:**尿素通过冷却尿素-药物混合物可用于制备固体分散体,也在熔融包衣操作中直接将载药粒子进行包衣。其熔点约 130℃,在水中易溶。各种尿素-药物分散体可通过熔融工艺来获得,这些内容在文献中已有报道,包括阿斯匹林、扑热息痛、苯巴比妥和甲苯磺丁脲。使用熔融的尿素的一个缺点是其性能不稳定,会转化成氨。

**聚乙二醇(PEG)类:**这些代表了用在固体分散体熔融制备中的一类最常见的材料。PEG 聚合物的相对分子质量分布从几百到几十万。用在固体分散体中的典型相对分子质量为 2000~20 000。通过熔融和凝结 PEG-药物制备固体分散体的例子有灰黄霉素、消炎痛、甲苯磺丁脲等,这些例子在文献中已被广泛地报道。PEG 的一个额外的好处是可以增加许多药物在水中的溶解度。这一点,以及有许多不同的相对分子质量可供使用,使其成为制备固体分散体的一类非常常用的材料。

**聚氧乙烯(PEO)聚合物:**与 PEG 类一样,但是 PEO 有更高的相对分子质量,如聚氧乙烯树脂 POLYOX<sup>®</sup>,它是水溶性聚合物。因为它们具有低的熔点和独特的溶胀性能,以及能够控制溶出速率,所以聚氧乙烯树脂已经被用于热熔挤出法制备缓释剂型<sup>[14]</sup>。

**羟丙甲基纤维素(HPMC):**Suzuki 和 Sunada<sup>[15a~b]</sup>报道了用烟碱和 HPMC 作为混合载体来制备固体分散体,用硝苯地平 and 尼群地平作为模型药物。该固体分散体是通过熔融方法制备的。当药物和 HPMC 都溶解在 140℃ 融化的液体烟碱中后,熔融的混合物被冷却以固化。

## L

**天然蜡和合成蜡：**用作凝结剂的最常见的天然蜡是巴西棕榈蜡，它是源于在巴西发现的棕榈树上的蜡。该蜡的主要组成是脂肪酯、羟基酯、对甲氧基肉桂酸和羟基桂皮酸脂肪醇二酯。它是最硬的和熔点最高的天然蜡之一（熔点 82~85℃）。它既可以用作包衣材料<sup>[9,16]</sup>，也可以用作固体分散体载体<sup>[4,17]</sup>。其他天然蜡被用在凝结中的包括石蜡和蜂蜡<sup>[18,19]</sup>。合成蜡，如硬脂酸和硬酯醇，通过熔融-凝结工艺常用于缓释蜡质骨架的制备<sup>[20]</sup>。

**氢化蔬菜油：**这些主要是由硬脂酸类组成。氢化蓖麻油（Cutina HR®）作为蜡质骨架材料用于熔融-造粒工艺<sup>[21]</sup>和喷雾-凝结工艺<sup>[22]</sup>中。

**甘油酯和聚乙二醇甘油酯：**大多用于制备缓释蜡质骨架制剂的常见载体是甘油酯和聚乙二醇甘油酯。有一些市售的商业产品，如 Compritol ATO888（山嵛酸甘油酯）、Myverol 18092（蒸馏的单亚油酸酯）、Myverol 18-99（蒸馏的单油酸酯）和 Myveplex 600（单油酸甘油酯）。它们已用作疏水性包衣<sup>[19]</sup>、喷雾-冻结剂<sup>[11,23]</sup>和阻滞材料以形成蜡质基质<sup>[24]</sup>。

**其他的聚合物和赋形剂：**其他一些赋形剂通过熔融-冻结工艺已经用于制备固体分散体和缓释蜡质骨架。最常见的例子是乙基丙烯酸和甲基丙烯酸甲酯共聚物（Eudragits）。尽管这些材料一般不适合用于熔融制备，但它们已被成功地用来改进通过熔融工艺制备的产品的释放。例如，Miyagawa 等<sup>[25]</sup>使用羟丙甲基纤维素和 Eudragit L-100 来改进二氯苯磺酸钠颗粒的释放特性，该颗粒是将药物、控释材料和巴西棕榈蜡的混合物通过熔融挤出造粒制成的。这些赋形剂的应用也已经由 Emori 等证明<sup>[26]</sup>。

## 重要的工艺和设备

### 1. 包衣工艺

当活性成分包在一种惰性核心材料中时，如以蔗糖粒，并且需要一种可凝结的材料作为缓释包衣时，则优选的设备通常是具有顶喷功能的流化床<sup>[27]</sup>。当然，也可以使用一种具有 Wurster 筒的底喷装置。流化床提供的好处是，它具有非常高的传热速度，并将熔融固体快速转化成粒子以便被包裹。重要的操作参数是床体的温度，流化空气的温度和流速，熔融材料和雾化空气的温度，喷雾速率和雾化空气压力。根据 Jones 和 Percel<sup>[28]</sup>的报道，产品的温度和被喷雾的熔融材料的液滴大小（它们是雾化空气压力和喷雾速率的一个函数）是关键参数。特别的关注要给予流化床内的喷嘴的隔热，以避免在操作中与喷嘴接触时再熔融包衣的粒子<sup>[9]</sup>。熔融材料的管线的加热也是绝对必要的，以避免包衣材料在到达喷嘴前就已经凝固。Jozwiakowski 等<sup>[27]</sup>考察了以糖为基质的颗粒的包衣，包衣材料为一种部分氢化的棉籽油（Durkee 07 硬脂酸），采用工作化的试验设计。该蜡质的熔点是 64℃，并发现当床层温度维持在 58℃ 时，包衣的表面会过度增长并变得粗糙。

然而，在床层温度为 54℃ 和 50℃ 时，包衣粒子具有均匀的、光滑的包衣表面。

Kennedy 和 Niebergall<sup>[18,19]</sup>介绍了一种新颖的流化床包衣，不用喷嘴输送就可凝结固体添加剂。他们将载有马来酸氯苯那敏（CPM）的各种不同蜡质包括蜂蜡进行包衣。制备的方法为在流化床中用包衣材料和药物以粉末形式进行包衣。床体通过热空气流化，热空气温度是可变的。操作过程包括 4 步：①设备预热；②床层的预热；③包衣材料的熔融和喷射；④包衣材料的冷却随后固化。用蜂蜡包衣的颗粒的释放曲线显示明显的缓释特征。有报道说从 10~35 目和达 1 g 的粒子的包衣都是可行的。

### 2. 喷雾-凝结工艺

用喷雾-凝结装置可以方便地在凝结的基质内形成药物分散体。这种类型设备的操作过程和重要的操作参数 Killeen 有详细的阐述<sup>[29]</sup>。喷雾-凝结工艺的基本操作步骤如图 4 所示。首先，含有所有辅料的熔融液体，被送入一个雾化的喷嘴中。然后，雾滴离开喷嘴进入冷却的容器或腔体，在那里与冷却的空气进行混合。雾滴凝固，落入腔体的底部或被向上流动的气流带走。较小的粒子被流动空气带走，并在旋风分离器中与空气分离开；较大的粒子落到腔体的底部，并被排出。如果有必要，在进入下一步工艺前，产品可按照需要对粒子的大小进行筛分。

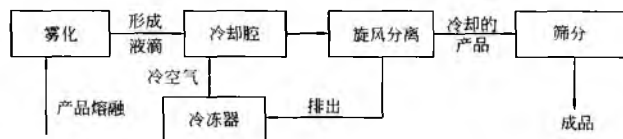


图 4 喷雾-凝结工艺的流程<sup>[29]</sup>

雾化喷嘴可以是以下四种基本形式中的一种：①二流式；②单流加压式；③单流盘或旋转式；④单流超音式。对所有的凝结工艺，输入管线必须加热以避免不希望的固化的产生，喷嘴应该在设备内隔热，以避免产品与喷嘴接触后发生再熔融。要最好地控制粒子大小和均匀性，推荐二流式或雾化空气喷嘴。该喷嘴能产生的粒子的大小在 50μm 以下，因为气流速率和压力能分别进行控制，液滴的大小能独立控制，不依赖于液体流速。当熔融的液体的黏度非常高或液体的数量很大时空气雾化喷嘴会出现问题，此时，常选用单流式喷嘴。当熔融物流过喷嘴中狭小的孔时，单流加压式（水压的）喷嘴利用流体的压力雾化。当熔融的固体含量低且液滴的大小不太小时，如至少 100~200μm，这些设备是合适的。盘式或旋转式雾化器由一个圆盘组成，连接到一个旋转的轴上，熔融的液体从它上面流过。通过圆盘的旋转运动，液体被分散成液滴，从而形成薄的、快速向外运动的喷射液滴。因而收集腔要短而宽的，上部空间要比所使用的水压和空气雾化喷嘴工艺中的小。产品的颗粒分布通过液体输入速率和圆盘的旋转速度来控制。这种类型的喷嘴能加工具有腐蚀性的、热敏感性

的和含固体量少于 20% 的熔融液体。在使用水压或旋转式喷嘴的工艺时,液滴的冷却速率相对较慢,在冷却腔里顺流的或逆流的空气流动比空气雾化喷嘴系统显著增加。使用超音式喷嘴生产凝结固体产品是比较新颖的。当液体被输送到振荡盘的表面时,该类型的喷嘴中的盘以超音速频率振荡以破坏液体流,形成的液滴通常非常小(小于  $30\mu\text{m}$ ),该工艺非常适合低流速液体。因为液滴形成过程很少施加直接的动能给液滴,喷雾模式相当小且可控。在最近的研究中,Rodriguez 等<sup>[22]</sup>证实了使用一种超音式喷嘴可以有效地制备出茶碱和芬布芬蜡基质的喷雾-凝结的产品。

冷却腔的设计必须允许固化的液滴从冷却的空气流中分离,并且允许液滴有足够的滞留时间来进行冷却和固化。对于液体的输入速率和组成确定时,冷量是固定的。这是因为除去的热等于固化时的潜热加上冷却产品的感应热,二者都取决于液体的输入速率。产生的液滴越小,空气流速必须越慢以允许其分离;然而,热传递对于较小的液滴会更快。由于空气流动实际上是由冷却能力来确定,因此倾向于使用更宽和更短的冷却容器。对较大的液滴来说,粒子的分离可以在较高的空气流速下发生。然而,由于热传递较慢,液滴滞留时间必须更长,从而需要更狭窄的和更高的冷却容器。逆流和顺流以及固定的空气流是可行的,Killeen 还讨论过几种其他形式的设计思路<sup>[29]</sup>。其他重要的产品参数,如熔融的液体黏度、表面张力、比重和固体的浓度,以及工艺参数,如空气流速、流动方式、喷雾角度、喷雾强度和喷嘴耐磨性也在该章中有所阐述。根据 Yajima 等<sup>[30]</sup>的报道,为了成功制备掩盖该克拉霉素苦味的蜡基质产品时,关键的生产参数是凝结速度,重要的工艺参数是液体的输入速率和雾化(旋转)轮子的速度。

### 3. 造粒工艺过程

药物粉末混入蜡质基质中,通过使用各种造粒技术可以将药物均匀地分散在基质中。Thies 和 Kleinebudde<sup>[31]</sup>描述了一种工艺,使用一种高剪切混合器将吸湿性药物 2-丙基戊酸钠分散在可熔融的黏合剂单硬脂酸甘油酯中。该高剪切混合器通过在混合容器外周增加温度浴进行改进。将预先过筛的药物首先加到容器中,预热和混合 10min,将黏合剂(单硬脂酸甘油酯)加入混合器里,开始造粒过程。因为药物具有吸湿性,所有与制备有关的活动均在相对湿度低于 40% 的环境中进行。药物-黏合剂组合物的固化温度大约为  $35^{\circ}\text{C}$ 。由于加入药物,该温度约比纯的黏合剂低  $35^{\circ}\text{C}$ 。所制得的颗粒,大小在  $4\text{mm}\sim 500\mu\text{m}$ ,冷却至室温进行分析。考查了几种处理工艺参数对于所制成的颗粒的性质的影响。这些参数包括黏合剂的用量、工艺温度、制粒(成团)时间和搅拌速度。

Evrard 等<sup>[21]</sup>考查了在高剪切混合造粒过程中黏合剂的熔融和流变学性质。这些研究得出结论认为,在高剪切机中成功的造粒,可在低于其熔点的温度使用各种低熔点黏合剂(Compritol® 888、Cutina® HR 和 Precirol® ATO5)。

黏合剂仅需要软化以制备颗粒,在造粒过程中,黏合剂的熔点范围和温度对黏合剂黏度的效果影响粒子成长的速度。

### 4. 熔融-挤出工艺

在聚合物成丸和混合工业中,热熔融-挤出工艺是一个很完善的单元操作。该工艺是将聚合物粉末和所需要的添加剂,如填充剂、着色剂和其他聚合物等输入,然后置于高温和非常高剪切力的环境中。温度导致聚合物熔融,螺杆的高剪切运动导致其他添加剂被紧紧地混合和分散在熔融的聚合物中。单螺杆和双螺杆单元均是常见的,后者能产生高得多的压力。双螺杆挤出机的示意图如图 5 所示。该挤出机由基本的七个单元组成:粉末供给窗口、筒、螺杆、模具、驱动部分、加热器和控制面板。

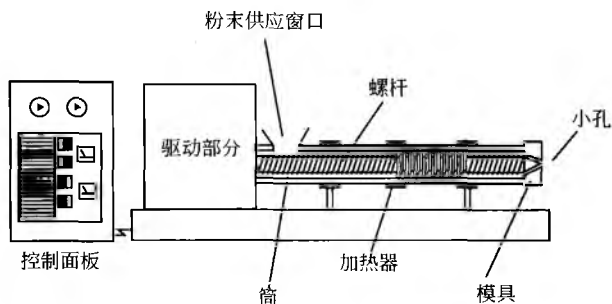


图 5 双螺杆混合挤出机的示意图<sup>[25]</sup>

因为聚合物混合的工艺非常类似于药物分散在一种可凝结的固体基质中,所以热熔融挤出技术用于制备蜡基质制剂并不奇怪。Miyagawa 等<sup>[25]</sup>使用了双螺杆混合挤出机来制备分散在巴西棕榈蜡基质中的二氯苯二磺酰胺钠的颗粒。他们列举了使用该设备的好处如下:

- 在单元内容易实现高捏合和分散能力,与赋形剂的物理、化学性质无关;
- 单元的每个区的温度能精确控制;
- 单元有极强的挤出能力;
- 粉末在筒内的滞留时间降到最小,因此最大限度地减少了产品的降解;
- 单元容易被清洗。

Zhang 和 McGinity<sup>[14]</sup>也报道了使用该类型的设备来制备缓释片,即将马来酸氯苯那敏(CPM)分散在含聚氧乙烯(PEO)的蜡质基质中。挤出片剂的含量均匀度是药物标示量的 99%~101%,这说明对于低剂量药物,如 CPM 是非常好的。对于该项目,添加 PEG 会显著影响缓释行为。随着 PEG 用量的增加释放速率也在增加。还发现 PEG 能明显地降低所要求的工艺温度并减少挤出片剂所需的扭矩力。这些研究者的结论是,热熔融挤出工艺适合制备缓释片剂,相对高的工艺温度所引起的药物降解也能避免,因为药物在筒内滞留时间很短(2~3min)。



## L

## 重要的应用

## 1. 使用熔融-凝结技术制备缓释剂型

许多延迟和缓释剂型可以通过熔融-凝结工艺来制备。该剂型可以是熔融-凝结的基质颗粒灌入胶囊或压制成片,或者在载药物上熔融-凝结包衣,再将包衣粒子或小丸灌入胶囊中。蜡质基质通常采用熔融造粒或熔融-挤出工艺来制备,但是微球或微粒通常采用喷雾-凝结工艺制备,包衣粒子或小丸采用热熔融-包衣工艺制备。

制备含药蜡包衣微球可以认为是一个包衣过程,尽管将它描述为相转换技术的包裹工艺更为准确。Giannola等<sup>[16]</sup>报道了采用该技术,制备载有丙戊酸(VA)的巴西棕榈蜡微球,粒径为200~425 $\mu\text{m}$ ,平均的药物含量是26%(w/w)。制备过程为先在110 $^{\circ}\text{C}$ 油浴中熔融巴西棕榈蜡,然后加入VA样品。在该均匀熔融物中加入酸性的水溶液(pH=4.5),可最大限度地降低VA的溶解度,同时加入甘油,可以增加熔点。再加入少量的表面活性剂(吐温或司盘),然后以预定的速率搅拌混合物。分散在水性介质中时,熔融物形成了球形粒子。加入冰水冷却混合物,最终巴西棕榈蜡固化并包裹了药物。

Miyagawa等<sup>[25]</sup>使用了一种双螺杆挤出机来制备蜡质骨架颗粒,以双氯芬酸钠作为模型药物,巴西棕榈蜡作为基质材料,羟丙甲基纤维素(HPC-SL)、甲基丙烯酸及其共聚物(Eudragit L-100)和氯化钠作为控释材料。药物从基质中的溶出行为对制粒过程影响很大。释放速率能通过添加其他控速材料进行调节。

Emori等<sup>[26]</sup>制备了蜡质基质的片剂,采用熔融-凝结工艺以延缓药物的释放。他们研究了添加丙烯酸聚合物对药物从蜡质基质中释放的影响,基质由巴西棕榈蜡和硬脂酸醇按1:1的比例组成。

Perez等<sup>[24]</sup>制备了盐酸苯丙醇胺缓释片,并考查了不同的蜡质用量和基质制备方法对药物释放的影响。采用两种方法来制备药物-基质系统:物理混合物和固体分散体。在第一种方法中,药物、蜡质和稀释剂在Turbula混合器中混合,物理稀释20min。然后将混合物压成片剂。对于固体分散体制备方法,蜡质在80~85 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中熔融,药物加入熔融的蜡质中,恒速搅拌5min,然后冷却混合物至固化。固化物用配有12号筛的Stokes振荡制粒设备制成颗粒,将碾细的材料(蜡质和活性成分)和稀释剂在Turbula混合器中混合20min。以物理混合制备的片剂比固体分散体制备的片剂的药物释放速度高。

为了在胃酸中保护药物或提供缓释效果,可采用热熔流化床包衣工艺实现在载药底物上包阻滞衣。必须选择合适的操作条件以防止包衣材料在输入过程中固化,并能得到光滑、均匀的包衣层,没有过量喷雾干燥和聚集。Kennedy和Niebergal<sup>[19]</sup>在热熔流化床中对载有CPM的材料进行包衣,包衣材料为疏水性的蜂蜡、石蜡等。他们证实

能够延缓该水溶性极好的药物CPM的释放。

## 2. 固体分散体提高难溶性药物的溶解度

如前所述,使用固体分散体提高水难溶性药物溶解度的方法可以追溯到1961年<sup>[1]</sup>。将药物活性成分制成固体分散体,能得到溶解度和生物利用度均较好的制剂。固体分散体也可用于制备控释剂型。

使用固体分散体来提高水难溶性药物溶解度的原理已经介绍过。常用的制备固体分散体的方法是熔融-凝结法。用作制备水难溶性药物的固体分散体的载体也已介绍过了。

药物在基质中的分散,既可以将药物溶解在熔融的固体中然后进行固化,也可以机械分散药物在熔融的液体中然后进行固化。如果药物是水难溶性的,基质材料可以是易溶于水的或水高度渗透的。制备药物分散体的设备非常多,包括喷雾凝结设备、造粒机和熔融挤出机。

硝苯地平是水难溶性药物,人们进行了大量的研究来提高它的溶解度。Suzuki和Sunada<sup>[15a]</sup>制备了硝苯地平的固体分散体,载体为烟碱和羟丙甲基纤维素(HPMC)的混合物。烟碱在140 $^{\circ}\text{C}$ 时熔融,药物和HPMC加入到熔融物中并溶解。冷却熔融混合物,固化形成硝苯地平的固体分散体。固体分散体中药物的溶解度增加了。该三元分散系统的药物溶出受HPMC的黏度和用量、药物的溶解度和用量以及储存湿度的影响。

Suzuki和Sunada<sup>[15b]</sup>还采用熔融方法制备了硝苯地平与其他组合载体的固体分散体。组合载体是烟碱和四种不同的水溶性聚合物:羟丙甲基纤维素(HPMC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、部分水解的聚乙烯醇(PVA)和普鲁兰多糖。HPMC、PVP和PVA溶解在熔融的烟碱中,促使硝苯地平以无定形的形式分散。在溶出研究中,这些分散体的药物浓度比药物固有的溶解度增加两倍多。

Hirasawa等<sup>[12]</sup>用乳糖作为载体制备了萘普生的固体分散体,其方法是先熔融然后用液氮快速冷却。萘普生的溶出度研究表明,与物理混合物和纯药物相比,其溶出速率在固体分散体中显著增加。

Doshi等<sup>[32]</sup>制备了卡马西平在PEG 4000和PEG 6000中的固体分散体,采用的是熔融和溶剂方法。固体分散体的溶出度曲线显示,卡马西平从固体分散体中的溶出速度和程度有很大的增加。与溶剂法相比,熔融(凝结)提供了更高的溶出速率和程度。另外,当固体分散体在室温下被缓慢冷却而不是用冰快速冷却时,卡马西平的溶出速度和程度也明显增加。

Van den Mooter等<sup>[33]</sup>采用熔融和冷却工艺制备了Tamazepam(一种镇定药)在PEG 6000和PVP K30中的固体分散体。相比于纯Tamazepam非常缓慢的溶出速率来说,该药在聚合物中的分散能明显提高溶出速率。这是由于改善了药物的可润湿性和可分散性,并减少了药物的结晶部分。

## 3. 掩味和防止在环境中的降解

Yajima等<sup>[30]</sup>采用喷雾-凝结技术来掩盖克拉霉素的苦



味。确定的优选蜡质基质处方为：30%的克拉霉素（CAM）、60%的硬脂酸单甘酯（GM）和10%的氨基羧基甲基丙烯酸共聚物 E（AMCE）。CAM 蜡质基质通过喷雾-凝结聚集工艺制备。AMCE 在 12℃ 时溶解在熔融的 GM 中，加 CAM 到该熔融物中并进行均匀混悬。然后，混悬液被转移到喷雾干燥器中并在不同的雾化旋转速度和液体输入速率下进行雾化。实验结果发现，以高的雾化转速和最佳的进液速度可以制得表面光滑的小球形基质。该基质具有优良的掩味特性，突释效应小，释放速率高。

采用熔融-凝结工艺进行隔离包衣，能掩盖不希望出现的味道并防止药物在环境中的降解。

## 凝结材料的稳定性和结构

### 1. 分析技术

差示扫描量热法（DSC）、X 射线衍射法（XRD）和红外光谱法是常见的用来分析凝结固体的结构特征的技术。热分析方法，如 DSC 和差示微量热分析法（DMA）通常用来研究溶质、溶剂和其他添加剂对聚合物的热力学性质的影响，如玻璃化转变温度（ $T_g$ ）和熔点；X 射线衍射法用来研究固体结晶的结构；红外技术被用来研究固体和溶液状态的相互作用，如复合、反应和氢键。

### 2. 实例研究

文献中大量报道了凝结固体的微观和宏观结构研究及其对活性成分的溶解度的影响。用凝结方法形成的固相的结构受到制备时材料凝结的过程、处方和固体产品存储条件的影响。

Zhang 和 McGinity<sup>[14]</sup> 采用熔融-挤出法制备了 CPM 骨架片，载体为聚氧乙烯（PEO）和聚乙二醇（PEG）的混合物。采用差示扫描量热法（DSC）、宽角 X 射线衍射法（WAXD）、红外光谱法和凝胶渗透色谱法研究样品的物理性质。共结果显示，PEO 和 PEG 组成了有序的结晶区域，互穿在随机的无定形区域中。WAXD 法证实了在片剂基质中存在 CPM 和 PEO 的结晶态。PEG 的作用是降低操作温度以及通过模具挤出熔融物所需的扭矩力，从而降低在片剂成型时对药物和聚合物的损害。聚合物的损害主要是由于挤出时存在的强大剪切力，会导致键的断裂和相对分子质量的降低。PEG 的引入导致熔融物的黏度明显降低，因此允许降低操作温度。PEG 对 PEO 的比例的增加也导致药物体外释放速率的增加。

Emas 和 Nyquist<sup>[17]</sup> 考查了巴西棕榈蜡通过喷雾-凝胶制备的固体分散体的老化和稳定性。采用等温微量热法（IM）测定刚刚凝结的蜡质样品和分别保存在温度为 40℃、50℃ 和 60℃ 下两天的样品的行为。刚刚制得的样品和经退火的样品测得的结果如图 6 所示，图 6 为热容量的变化速率（ $dq/dt$ ）与测定时间的关系图。放热反应为正向偏离，而吸热反应为负向偏离。从图 7 中可以清楚地看到，样品

在不同的温度下退火可以降低放热反应的强度。绝对偏差值取决于进行实验的温度。然而，在所有的温度下均遵循增加退火温度则降低放热反应的趋势。进行了一系列的试验来评价长期存储后对热容量随时间变化的影响。虽然实验结果取决于测试温度，但是趋势是相似的。图 7 显示了一种蜡质样品在 50℃ 退火两天后再密封在室温下储存 12 个月的结果。从图 7 中可以看到，随着存储温度的增加，最初的放热反应强度降低了，并且稳态（与天然蜡质的结果相似）随时间的推移逐渐达到。从该试验能够看到，喷雾-凝结制备的巴西棕榈蜡最初是以一种不稳定的形式存在，在存储期（老化）缓慢变成稳定的形式。储存前样品在较高的温度（40~60℃）下退火，可使样品加速老化。然而，老化速率是退火的一个复杂函数，因为看起来蜡质在不同温度下有不同的稳态。

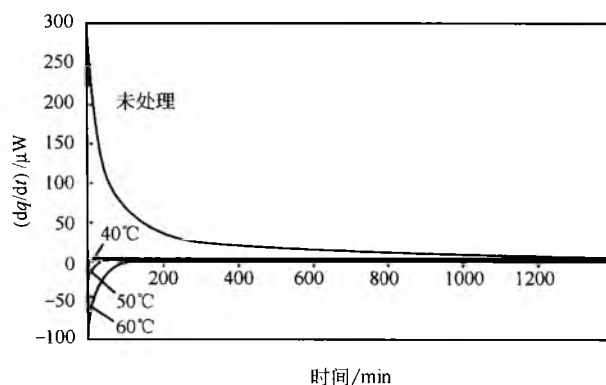


图 6 喷雾-凝结的巴西棕榈蜡的微量热测定结果未处理的样品和在不同温度下退火并在室温条件下放置 5 天的样品，所有的测定在 45℃ 的条件下进行<sup>[17]</sup>

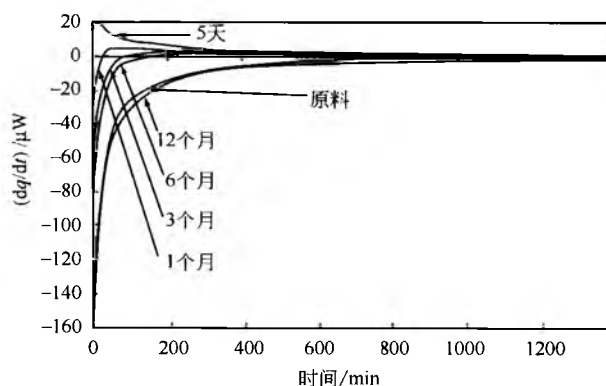


图 7 喷雾-凝结的巴西棕榈蜡的微量热测定结果样品在 50℃ 下退火两天，再在室温条件下储存不同的时间，测定在 45℃ 的条件下进行<sup>[17]</sup>

Eldem 等<sup>[34]</sup> 考查了两种不同的药物（雌二醇和乙酸安宫黄体酮）在两种脂质 [GTS-33（三硬脂酸甘油酯）和 ATO888（山嵛酸甘油酯）] 中，凝结微丸的多晶态行为。药物和可凝结的基质（三硬脂酸-山嵛酸酯）制备成微丸，

## L

然后分别取样密封, 分别在 $-18^{\circ}\text{C}$ 、 $4^{\circ}\text{C}$ 、 $25^{\circ}\text{C}$ 和 $37^{\circ}\text{C}$ 下储存6个月。采用DSC考查样品在储存一段时间后的稳定性, 并用扫描电镜(SEM)测量微球的表面形态。其结论为, 所有样品最初具有不稳定的多形态的结构, 具有光滑表面形态的对应于 $\alpha$ -型, 它是从熔融物中快速结晶得到的。根据Garti和Sato<sup>[35]</sup>的研究可知, 由于表面形态光滑,  $\alpha$ -型的结晶非常小, 变成更稳定的 $\beta$ -型的速率取决于储存温度。存在添加剂, 如lechtin时, 也能明显影响结晶结构的转变速率。更高的储存温度可以增加多晶型的转化速率, 然而lechtin的加入起到稳定剂的作用, 减慢了这种转化。

McGinity<sup>[36]</sup>考查了冷却过程怎样影响通过凝结制备的药物和蜡质基质混合物的固体分散体的性质。其研究的体系是尿素和PEG6000中的甲苯磺丁脲。采用粉末X射线衍射法确定这些固体分散体的结晶度。对于甲苯磺丁脲-尿素体系, 熔融物快速冷却导致药物蜡质形成明显不同的结晶形式。然而, 熔融物在室温油浴中缓慢冷却几个小时后得到的固体完全没有结晶性。该无定形固体在储存5个月后形成了一种结晶结构, 但是该结晶只是尿素的, 而两种固体简单的物理混合物则明确显示了其为甲苯磺丁脲和尿素的结晶混合物。与甲苯磺丁脲-尿素体系相比, 甲苯磺丁脲-PEG体系快速冷却和缓慢冷却有着相似的结晶度。对该体系的快速冷却、缓慢冷却和物理混合物样品的溶出曲线进行了比较后发现, 所有这三种样品的曲线是相似的, 然而, 在溶出过程的任一时间点, 快速冷却样品的释放度约比其他两种样品的高10%。

Coben和Lordi<sup>[37]</sup>使用改进的Krowczynski设备<sup>[38,39]</sup>考查了不同栓剂的硬化。栓剂基质是市场上可以获得的材料, 为天然和合成的蜡质与脂肪的混合物。样品采用不同基质材料制备, 在50孔的铜模中凝结熔融的材料。将该样品置于不同的储存温度下( $-5^{\circ}\text{C}$ 、 $4^{\circ}\text{C}$ 和 $22^{\circ}\text{C}$ ), 则相应的脱模时间分别为5min、15min和30min。脱模后, 每一批的样品分别储存在 $4^{\circ}\text{C}$ 、 $20^{\circ}\text{C}$ 和 $30^{\circ}\text{C}$ 三种不同的温度下。采用DSC法和XRD法评价栓剂基质材料中结晶和多晶型的转化。结果清楚地表明, 老化-变硬现象完全是由于从无定形向结晶结构的转化, 并且没有发生多晶型的变化。该结果也表明, 在确定的条件下样品再软化的时间取决于储存温度, 而与脱模过程中固化的速率无关。

从以上列出的研究示例可见, 凝结材料中的结构变化明显不同, 而且对于一类的赋形剂来说, 很难确定和概括这些趋势。然而, 客观地说, 对于许多凝结材料老化效应是普通的, 并且必须仔细地设计试验以评价引起这些变化的不同现象。

## 优、缺点

使用熔融-凝结工艺的好处是多方面的。一般来说, 在制备和生产过程中无须溶剂, 避免了溶剂回收的环境要求。因为不需要溶剂挥发, 工艺时间也短得多。例如, 在包衣操作中, 凝结熔融液体的时间比挥发溶剂的时间要短得多。

此外, 不希望发生的药物-溶剂互相作用也被消除了, 如水中极不稳定的药物可通过熔融工艺来制备。

使用熔融-凝结工艺也有一些缺点。在熔融载体时的温度下药物必须是稳定的。对于许多药物来说, 发生降解时的温度比较低, 也许难以找到合适的基质材料。使用热熔流动工艺时, 要求仔细进行工程设计以避免进料管线的固化和不希望的结块的产生。用来制备固体分散体和包衣的许多基质材料在储存期要经历老化过程, 会影响药物的稳定性和(或)药物的释放。

## 总结

熔融-凝结技术的应用是多方面的, 如控释剂型、提高水难溶性药物的溶解度和苦味药物的掩味。尽管将活性成分制成固体分散体是提高水难溶性药物溶解度的一种好方法, 但是对于与固体凝结有关的稳定性和老化问题仍然需要进行更加广泛和深入的研究。

## 参考文献

1. Sekiguchi, K.; Obi, N. Studies on Absorption of Eutectic Mixtures. I. A Comparison of the Behaviour of Eutectic Mixture of Sulfathiazole and that of Ordinary Sulfathiazole in Man. *Chem. Pharm. Bull.* 1961, 9, 866—872.
2. Kanig, J. L. Properties of Fused Mannitol in Compressed Tablets. *Pharm. Sci.* 1964, 53, 188—192.
3. Martin, A.; Bustamante, P.; Chun, A. H. C. States of Matter. *Physical Pharmacy*, 4th Ed.; Lea and Febiger: Philadelphia, 1993; 22—52.
4. Ford, J. L. The Current Status of Solid Dispersions. *Pharm. Acta Helv.* 1986, 61 (3), 69—88.
5. Goldberg, A. H.; Gibaldi, M.; Kanig, J. L. Increasing Dissolution Rates and Gastrointestinal Absorption of Drugs via Solid Solutions and Eutectic Mixtures. II. Experimental Evaluation of a Eutectic Mixture; Urea-Acetaminophen System. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55, 482—487.
6. Goldberg, A. H.; Gibaldi, M.; Kanig, J. L. Increasing Dissolution Rates and Gastrointestinal Absorption of Drugs via Solid Solutions and Eutectic Mixtures. III. Experimental Evaluation of Griseofulvin-Succinic Acid Solid Solution. *J. Pharm. Sci.* 1966, 55, 487—491.
7. Chiou, WinL. Pharmaceutical Applications of Solid Dispersion Systems; X-ray Diffraction and Aqueous Solubility Studies on Griseofulvin-Polyethylene Glycol 6000 Systems. *Pharm. Admin.* 1977, 66 (7), 989—991.
8. McGinity, J. W.; Coffin, M. D. Cooling Processes and Congealing. *Encyclopedia of Pharm. Technology*, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990; 3, 318.
9. Achanta, A. S.; Adusumilli, P. S.; James, K. W.;

- Rhodes, C. T. Development of Hot Melt Coating Methods. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23 (5), 441–449.
10. Froemming, K. -H.; Vetter, G. *Pharm. Ind.* 1975, 37, 1051.
11. Sirenus, I.; Krogerus, V. E.; Leppanen, T. J. Dissolution Rate of p-Amino Benzoate from Solid Xylitol Dispersions. *Pharm. Sci.* 1979, 68, 791–792.
12. Hirasawa, N.; Danjo, K.; Haruna, M.; Otsuka, A. Physicochemical Characterization and Drug Release Studies of Naproxen Solid Dispersions Using Lactose as a Carrier. *Chem. Pharm. Bull.* 1998, 46 (6), 1027–1030.
13. Danjo, K.; Nakata, T.; Otsuka, A. Preparation and Dissolution Behavior of Ethenzamide Solid Dispersions Using Various Sugars as Dispersion Carriers. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45 (11), 1840–1844.
14. Zhang, Feng; McGinity, J. W. Properties of Sustained-Release Tablets Prepared by Hot-Melt Extrusion. *Pharm. Dev. Technol.* 1999, 4 (2), 241–250.
- 15a. Suzuki, H.; Sunada, H. Some Factors Influencing the Dissolution of Solid Dispersions with Nicotinamide and Hydroxypropylmethylcellulose as Combined Carriers. *Chem. Pharm. Bull.* 1998, 46 (6), 1027–1030.
- 15b. Suzuki, H.; Sunada, H. Influence of Water-soluble Polymers on the Dissolution of Nifedipine Solid Dispersions with Combined Carriers. *Chem. Pharm. Bull.* 1998, 46 (3), 482–487.
16. Giannola, L. I.; De Caro, V.; Severino, A. Carnauba Wax Microspheres Loaded with Valproic Acid; Preparation and Evaluation of Drug Release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1995, 21 (13), 1563–1572.
17. Emas, M.; Nyqvist, H. Methods of Studying Aging and Stabilization of Spray-Congeaed Solid Dispersions with Carnauba Wax. 1. Microcalorimetric Investigation. *Int. J. Pharm.* 2000, 197, 117–127.
18. Kennedy, J. P.; Niebergall, P. J. Development and Optimization of a Solid Dispersion Hot-Melt Fluid Bed Coating Method. *Pharm. Dev. Technol.* 1996, 1 (1), 51–62.
19. Kennedy, John P.; Nieberga, Paul J. Evaluation of Extended-Release Applications for Solid Dispersion Hot-Melt Fluid Bed Coatings Utilizing Hydrophobic Coating Agents. *Pharm. Dev. Technol.* 1998, 3 (1), 95–101.
20. Motycka, S.; Nairn, J. G. Influence of Wax Coatings on Release Rate of Anions from Ion-Exchange Resin Beads. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67 (4), 500–503.
21. Evrard, B.; Amighi, K.; Beten, D.; Delattre, L.; Moes, A. J. Influence of Melting and Rheological Properties of Fatty Binders on the Melt Granulation Process in a High-Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25 (11), 1177–1184.
22. Rodriguez, L.; Passerini, N.; Cavallari, C.; Cini, M.; Sancin, P.; Fini, A. Description and Preliminary Evaluation of a New Ultrasonic Atomizer for Spray-Congeaing Processes. *Int. J. Pharm.* 1999, 183, 133–143.
23. Chang, Chin-Ming; Bodmeier, R. Swelling of and Drug Release from Monoglyceride-Based Drug Delivery Systems. *Pharm. Admin.* 1997, 86 (6), 747–752.
24. Perez, M. A.; Ghaly, E. S.; Marti, A. Sustained Release Phenylpropanolamine Hydrochloride from ATO 888 Matrix. *Puerto Rico Health Sci. J.* 1993, 12 (4), 263–267.
25. Miyagawa, Y.; Okabe, T.; Yamaguchi, Y.; Miyajima, M.; Sato, H.; Sunada, H. Controlled-Release of Diclofenac Sodium from Wax Matrix Granule. *Int. J. Pharm.* 1996, 138, 215–224.
26. Emori, H.; Ishizaka, T.; Koishi, M. Effects of Acrylic Acid Polymer and its Arrangement on Drug Release from a Wax Matrix. *J. Pharm. Sci.* 1984, 73 (7), 910–915.
27. Jozwiakowski, M. J.; Jones, D. M.; Franz, R. M. Characterization of a Hot-Melt Fluid Bed Coating Process for Fine Granules. *Pharm. Res.* 1990, 7 (11), 1119–1126.
28. Jones, D. M.; Percel, P. J. Coating of Multiparticulates Using Molten Materials; Formulation and Process Considerations. *Multiparticulate Oral Drug Delivery*; Ghebre-Sellasie, I. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York; 1994; 113–142.
29. Killeen, M. J. The Process of Spray Drying and Spray Congeaing. *Pharm. Engineering* 1993, 13 (4), 56–64.
30. Yajima, T.; Umeki, N.; Itai, S. Spray Congeaing for Masking the Bitter Taste of Clarithromycin in Wax Matrix. *Chem. Pharm. Bull.* 1999, 47 (2), 220–225.
31. Thies, R.; Kleinebudde, P. Melt Pelletisation of a Hygroscopic Drug in a High Shear Mixer Part 1. Influence of Process Variables. *Int. J. Pharm.* 1999, 188, 131–143.
32. Doshi, D. H.; Ravis, W. R.; Betageri, G. V. Carbamezepine and Polyethylene Glycol Solid Dispersions; Preparation, In Vitro Dissolution, and Characterization. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, 23 (12), 1167–1176.
33. Van den Mooter, G.; Augustijns, P.; Blaton, N.; Kinget, R. Physico-Chemical Characterization of Solid Dispersions of Temazepam with Polyethylene Glycol 6000 and PVP K30. *Int. J. Pharm.* 1998, 164, 67–80.
34. Eldem, Turkan; Speiser, Peter; Altorfer, Hans. Polymorphic Behavior of Sprayed Lipid Micropellets and its

# L

Evaluation by Differential Scanning Calorimetry and Scanning Electron Microscopy. *Pharm. Res.* 1991, 8 (2), 178—184.

35. Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids. Garti, N., Sato, K., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 31.
36. McGinity, James W. Maincent Philippe; Steinfink, Hugo. Crystallinity and Dissolution Rate of Tolbutamide Solid Dispersions Prepared by the Melt Method. *Pharm. Admin.* 1984, 73 (10), 1441—1444.
37. Coben, Larry J.; Lordi, Nicholas G. Physical Stability of Semisynthetic Suppository Bases. *Pharm. Admin.* 1980, 69 (8), 955—960.
38. Krowczynski, L. *Diss. Pharm.* 1959, 11, 269.
39. Krowczynski, L. *Acta Pol. Pharm.* 1965, 22, 1949—1954.

## 进一步阅读

- Aitken-Nichol, C.; Zhang, Feng; McGinity, J. W. Hot Melt Extrusion of Acrylic Films. *Pharm. Res.* 1996, 13 (5), 804—808.
- Ansel, H. C.; Popovich, N. G. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 5th Ed.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1990.
- Evrard, B.; Delattre, L. In Vitro Evaluation of Lipid Matrices for the Development of the Sustained-Release Sulfamethazine Bolus for Lambs. 1996, 22 (2), 111—118.
- Hincal, A. A.; Kas, H. S. Preparation of Micropellets by

Spray Congealing. *Multiparticulate Oral Drug Delivery*; Ghebre-Sellasie, 1st Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 17—34.

- Krape, P. J.; Chang, S. C.; Hein, W. A. II; Telcha, C. A. Process for the Manufacturing Paroxetine Solid Dispersions. US Patent, 5 955, 475, 1999.
- Oshlack, B.; Chasin, M.; Miniguc, J. J.; Kaiko, R. F. Controlled Release Oxycodone Compositions. US Patent 5 549 912, 1996.
- Oth, M. P. Sustained Release Solid Dispersions of Indomethacin with Eudragit RS and RL. *Int. J. Pharm.* 1989, 55, 157—164.
- Qui, Y.; Trivedi, J. S.; Graham, S. L.; Flood, K. M.; Krill, S. L. Tablet for the Controlled Release of Active Agents. US Patent, 6, 033, 685, 2000.
- Rudnic, E. M.; McCarty, J. A.; Belenduk, G. W. Hydrophobic Drug Delivery Systems. US Patent, 5 430 021, 1995.
- Sugao, H.; Yamazaki, S.; Shiozawa, H.; Yano, K. Taste Masking of Bitter Drug Powder without Loss of Bioavailability by Heat Treatment of Wax-Coated Microparticles. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87 (1), 96—100.
- Suzuki, H.; Sunada, H. Influence of Water-Soluble Polymers on the Dissolution of Nifedipine Solid Dispersions with Combined Carriers. *Chem. Pharm. Bull.* 1998, 46 (3), 482—487.

(陈志明 译)

# 离子导入

J. Bradley Phipps

Erik R. Scott

J. Richard Gyory

Rama V. Padmanabhan.

ALZA Corporation, Mountain View, California, U. S. A.

## 引言

离子导入是指为治疗或诊断目的,在外加电势的作用下,促进物质跨生物膜传递进入或排出身体的技术。离子导入最常见的应用是将药物透皮传递,还有运用离子导入治疗眼、耳、鼻和口腔疾病的许多例子。离子导入还能用于从身体内排出物质,如葡萄糖。一种称为微型离子导入的技术应用小的毛细管探针将精确量的活性物质释放到细胞内来研究细胞的功能。

Banga<sup>[1]</sup>认为早在1747年Veratti就利用电势促进荷电物质穿入组织,Stephane Luduc<sup>[2]</sup>被认为是在该领域最重要的早期研究者,他在1907年发表了论文“离子治疗技术”(Les Ions et les Medications Ioniques),对离子导入进行了全面的研究。

今天,通过离子导入将药物输送进皮肤或黏膜是一种非侵害(无针)的方法,输送速率主要取决于外加的电流强度,模式化和节律式的给药也成为可能。上市销售的装置是典型的仪表式结构,通过电线将分离的贴片连接到电源。然而,由于近来在电子线路和电池技术方面的创新,可以用小型集成的贴片式系统进行离子导入治疗。

离子导入最通常的治疗应用是应用利多卡因进行局部麻醉,和地塞米松治疗局部炎症(Iomed公司和Empi公司)。除这些治疗上的应用外,离子导入系统还用于诊断囊肿性纤维化,例如,Scandipharm公司的CF Indicator<sup>®</sup>和Wescor公司的Sweat Inducer为已上市的系统,通过输入匹鲁卡品引起局部出汗,收集汗液,测试其中氯的含量。目前,Cygnus公司的离子导入系统从皮肤中提取葡萄糖,检测低或高血糖症。

尽管这些例子说明离子导入技术在局部输送化合物方面有着成功的应用,在透皮吸收全身用药方面的应用还不广泛。但由于离子导入技术提供了潜在的医学上和经济上的利益,特别是为了迎接新的生物工程药物对药物传递技术提出的挑战,人们对于这个领域的兴趣越来越大。

图1是透皮离子导入系统在皮肤上应用的原理图,电源(如电池)通过两个电极提供电流。第一个电极,称为供给电极,将治疗剂送入人体;第二个电极,称为反或接收电极,形成闭合电路。每个电极接上一个可电离的导体储库,通常是液体或水凝胶,该储库置于患者的皮肤上,

含有药物(若是供给电极)或生物相容的电解液(若是接收电极)。

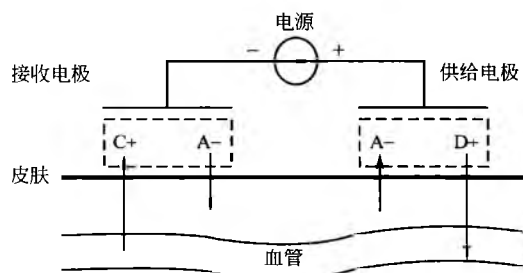


图1 离子导入装置在皮肤表面的示意图,显示离子在外加电场作用下的迁移

## 转运机理

离子导入包括将分子输送进入皮肤的几个过程:电迁移、电渗和电致孔。电迁移是指荷电离子在外加电场作用下的运动过程,该过程通常是递送荷电药物的主要过程;荷电组分在溶剂中的移动能引起溶剂的流动称为电渗,该过程对于递送中性和荷电组分均有效;电致孔是在生物膜双分子层两侧加上高电压脉冲,如50~1000V,在脂质双分子层产生临时的水性孔道,该过程对于递送大的亲水性药物分子有效。在进行离子导入治疗时,这些过程单独或同时发生,依赖于外用电场的强度和作用时间、供给池的组成以及治疗的组织部位,作用程度不同。

图1示意了电迁移引起的电荷运动,图中,正电荷药物(D<sup>+</sup>)及其反离子(A<sup>-</sup>)置于供给池中进行递送,阴极的接收池中有生理可接受的阳离子(C<sup>+</sup>)和阴离子(A<sup>-</sup>)。在外加电场作用下,药物离子迁移进入皮肤,内源性的阴离子大部分为氯离子,从体内迁移出进入供给池,同时,在作为接收池的阴极,阴离子从接收池进入皮肤,而内源性的阳离子,大部分是钠和钾离子,从体内迁移出进入接收池。整个过程中离子的移动维持着局部的电中性。

进行离子导入治疗时,将系统置于皮肤上,供给池中的治疗剂必须穿过皮肤的最外层——角质层,该层为物质进出体内的主要屏障。角质层良好的屏障性质源于其独特的结构:有10~20层扁平的角化细胞由主成分是酰基鞘氨醇的脂质双分子层黏接起来。通常,亲脂性的物质能够穿

角角质层,因为它们能分布进入在细胞间的区域,相反,大部分离子和极性物质不能进入这个区域。

在离子导入常用的电压(2~80V)的作用下,皮肤通道的性质和组成还有争论,然而越来越多的证据表明离子穿过角质层的通道并不是空间上均匀分布的,而是分布于局部的区域。这些区域包括内源性的旁路,就像穿过角质层的结构,如汗腺管和毛囊,但也包括非天然的通道。对于模型剂穿过无毛的和裸鼠的皮肤直接测定结果表明,总的透皮流量的60%~90%通过这样的区域<sup>[3]</sup>。荷电药物穿过生物膜的转运速率通常用Nernst-Planck方程进行描述,该方程包含扩散、电迁移和整体对流等项。然而,在最佳的离子导入状态下,电迁移的作用远远大于其他两个过程,因此离子药物递送的表达式就简化为只有电迁移项,药物的分子流按Faraday定律与电流相关:

$$N = (I_d IM) / (z_d F) \quad (1)$$

式中:  $N$  为总的输送速率;  $I_d$  为迁移数(即药物的荷电分数);  $I$  为加在皮肤上的电流强度;  $M$  为药物的相对分子质量;  $z_d$  为药物分子的化合价;  $F$  为Faraday常量。

很多研究人员用体外和体内的试验结果说明药物的透皮速率在较大的范围内与外加电流成正比,由于研究是在固定的皮肤接触面积上进行的,因此迁移数可以看成是常数,与电流密度无关。可是与其他的迁移组分比起来,每个药物的迁移数是特定的,是药物的淌度、电荷和浓度的函数,可以用式(2)表示:

$$I_d = \frac{\mu_d |z_d| c_d}{\sum_i \mu_i |z_i| c_i} \quad (2)$$

式中:  $\mu_d$ 、 $z_d$  和  $c_d$  分别为药物分子的淌度、电荷和摩尔浓度;  $\mu_i$ 、 $z_i$  和  $c_i$  是与药物竞争透皮转运的每个离子的淌度、电荷和浓度。竞争离子是处方中那些与药物带同样电荷的离子(如竞争同离子),以及体内与药物带相反电荷的离子(竞争反离子)。

迁移数决定转运效率,即单位电荷穿过皮肤时递送的药物量。为了提高生物相容性和延长电池寿命,要尽可能减小电流,处方开发时要将  $I_d$  最大化,可以通过最大化药物离子的淌度和浓度,而尽可能地最小化竞争离子的淌度和浓度来实现。简单的方法是在处方中使用尽可能高的药物浓度,同时避免能产生同离子的辅料和杂质。即使采取了这两种措施,在实际操作中仍然难以得到单一的  $I_d$ ,即所有的电荷均由药物离子携带,因为有内源性的反离子,如  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$ 。竞争反离子的效率降低效应可以通过皮肤内在的穿透选择性加以削弱。对电荷的穿透选择性来源于Donnan排斥原理,皮肤的等电点约为  $\text{pH}=4$ 。对于  $\text{pH}<4$  的处方,皮肤有净正电荷,优先转运阴离子,而对于  $\text{pH}>4$  的处方,皮肤有静负电荷,优先转运阳离子。因此,在生理学  $\text{pH}=7.4$ ,皮肤应带负电荷,是阳离子选择性的。

有效的离子导入依赖于处方中的材料和赋形剂,选择适当的电极和处方对于最大化离子导入治疗的效率至关重要。以下部分将总结透皮给药中选择电极和处方的标准,很多相同的原则适用于黏膜和体内植入剂的离子导入系统。

## 电极

电极给离子迁移施加驱动力,是系统的关键部分,电极充当连接两个池的桥梁,起到电和化学功能。在离子导入治疗过程中,电极持续进行着电化学反应,因而反应物的迁移要着重加以考虑,用于离子导入装置的电极不同于其他大部分医学电极。例如,医学上的电势测定电极(比如心电图或脑电图电极)不发生电化学反应,这种测量设备不需要或需要很少电流。其他的应用如心脏整律或者透皮神经刺激(TENS),外加电压脉冲特别短(毫秒或更少)或交变极性,总的反应产物量也不大。对于这些应用,用惰性材料制备电极可以控制电化学反应,如金、铂或不锈钢。相反,如下文所述,离子导入电极通常是内在的反应物质,是按其电化学特性进行选择的。因为其反应活性,也因为电极直接接触药物处方,间接接触患者身体,选择一个既能运行又能在储藏和使用时避免不良的材料和生物相互作用的电极系统,在技术上是具有挑战性的。

如图1所示,透皮离子导入系统要求两个电极接触患者的皮肤,供给电极(又称递释电极或作用电极)接触药物储库,反电极(又称返回电极或接收电极)接触反调节储库,给电流提供通道组成电路。两个储库彼此分开,在一固定区域接触皮肤,电场通过电极施加于皮肤,将电池提供的电流转变成离子流进入皮肤和身体。同时,在电极/电解液界面发生Faraday反应,如前所述,给药速率与电流大致呈线性关系。

供给电极和反电极的极性依要递送的离子的电荷而定。要将供给池中中性离子送入皮肤,供给电极应为正极(如阳极),反电极为负极(如阴极);而供给负电性的离子,极性则相反,即供给电极为阴极,反电极为阳极。

实用的电极系统必须符合各种性能、相容性和身体上的要求,如有可能,电极系统应能提供最大的给药效率(即每单位电流递送的药物量),低压运行(如1V),有足够的使用寿命(如24h),在全部的皮肤表面均匀地分布电流(如 $10\text{cm}^2$ )。为提高相容性,电极应该用无毒的材料制作,并与处方中的其他成分(如药物、赋形剂和基质材料)相容。另外,不应产生有害的或影响药物和赋形剂稳定性的反应产物。

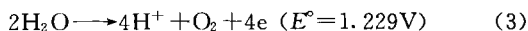
有两类电极,一类是非消耗的或惰性的,一类是可消耗的或损失的,非消耗电极由不起反应的材料制成,可消耗电极是电化学活性的,在治疗过程中因电流通过会发生结构上的改变。

### 1. 非消耗电极

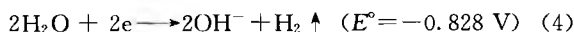
早期的离子导入给药系统(IDDS)使用的材料是非消耗的,通常使用的材料包括不锈钢或铂等金属。尽管这些名义上的惰性材料有较长的使用期和存储期,它们也有明显的缺点。

按Faraday定律,IDDS的运行需要发生电极与通过的

电荷数成正比的氧化还原反应。对于接触水电解质溶液的非消耗性电极,可能的氧化还原反应是水的电解。因此,在阳极的反应为



在阴极,最通常的稳态反应为



这两个反应均会产生许多不希望得到的结果,产生 $\text{H}^+$ 和 $\text{OH}^-$ 会改变处方的pH,影响给药效率(由于皮肤渗透选择性的改变,形成竞争离子,或改变药物的荷电状态)和皮肤耐受性。产生的气体会聚集在电极或者皮肤表面,影响电流分布的均匀性。另外,由于这些反应发生在比较高的电压下,会产生较高的能量消耗和药物或其他辅料电致降解的危险。

用非贵金属如不锈钢制成的电极,阳极的直接氧化会释放金属离子,或在阴极产生腐蚀性环境释放金属离子。例如,400 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 离子导入几分钟后,从医用级的不锈钢阳极会释放出镍和铬离子,这些离子对身体是有害的<sup>[4]</sup>。

减轻不需要的反应产物的有害作用的化学方法有三种:阻止其迁移,将其中和(如缓冲),或在储库电解液中添加更易发生氧化还原作用的离子以阻止其形成。采用离子交换膜或分子选择性膜或涂层将药物制剂或身体与电极及电解液隔离,可以阻止其迁移。例如,在非消耗电极表面涂上阴离子选择性涂层,该涂层由甲基丙烯酰胺-氯化丙基三甲基铵与甲基丙烯酸甲酯共聚而成,能阻止药物脱氢吗啡酮向电极迁移,从而阻止药物在电极电势高达800mV时的降解<sup>[5]</sup>。

缓冲剂可以部分补偿产生的酸和碱,但其作用持续时间(缓冲容量)受限于添加的缓冲剂的量,加入过多的缓冲盐会导致离子的竞争。离子交换聚合体能有效地清除、中和并固定产生的反应产物<sup>[6]</sup>,与单纯的缓冲盐相比,其优点是聚合物链是固定的,因而是非竞争性的。

## 2. 消耗性电极

如前所述,针对非消耗电极的缺点已经设计了解决方案,尽管许多方案在原理上是简单的,但由于多种物理的、化学的和生物上的要求,实行起来还有困难。简单的变通方法是使用消耗性电极,或称为损失性电极,在操作过程中,该电极发生电化学反应而改变。合适的消耗性电极在较低的低电势时发生氧化还原反应,因而避免在电极表面发生副反应(如水、药物或赋形剂的电解),氧化还原反应的反应物和产物必须符合制剂和生物相容性要求。

损失性电极的使用寿命或容量有限,其定义是在反应物耗尽前能通过的电荷的数,电极的容量可以通过实验测定,或用式(5)计算:

$$Q = \frac{umnF}{3.6M} \quad (5)$$

式中:Q为电极容量,mA·h;u为利用率(能反应的离子分数);m为反应物的质量,g;n为每摩尔反应物的电荷数;F为Faraday常量,96485C/mol;M为反应物的摩尔

质量,g/mol;常数3.6为换算因子,C/(mA·h)。如果消耗导致开路,电极将停止工作,否则只要有电流通路,电极就会在接近最佳的状态下继续工作(如在较高的电压下,其他的氧化还原反应如水的电解会发生)。

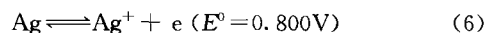
电极的材料和结构要设计得能最大化地利用反应物,这样电极可以很细小,能最经济地使用消耗电极。限制利用率的因素包括活性组分的逐渐钝化(在活性表面形成均匀的、不溶的非导体)、形成岛屿(不均匀电流分布引起的活性部分的相互隔离)。

没有一个消耗性电极可以适合所有的离子导入,不同的材料符合不同的容量需要,因为消耗性电极由化学活性组分组成,某些材料可能与一定的药物或赋形剂相容,但不可能与所有的药物和赋形剂相容。最流行的电极基于银/氯化银氧化还原对,银和氯化银有几个有利的特性:生物相容,表现好,在医学上的应用有一定的历史,如感应电极。

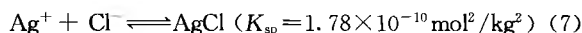
## 3. 银作为消耗性阳极

在含有氯或其他卤素离子的电解质溶液中插入银,是使用最多的自耗阳极,用于导入带正电荷的药物。

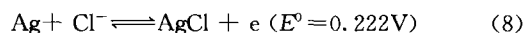
金属银按式(6)进行氧化反应:



有氯离子时,立即与银离子反应,即



完整的反应是



最终产物氯化银附于银阳极表面上,为电中性且在水中不溶解,因此,该反应不产生与阳离子药物竞争的离子。由于平衡电位较低,反应快,银阳极可以在低压下运行,避免了不需要的副反应,如水的分解,药物和赋形剂的降解等。快速的反应动力学和产物氯化银的无移动性,使该系统是高度可逆的。可逆电极系统在交变极性IDDS中特别有吸引力,如可以将药物置于两个电极中,随着电流的反转,两个电极交替递送药物。电极在周期的一相放电,在另一相再充电,其容量可以增加。

使用银作为阳极形成氯化银有一个很大的局限,银表面随着氯化银层的增厚会逐渐钝化,引起放电电压的增大。这个钝化过程限制了最大可容许电流密度以及银的利用率。

## 4. 银阳极中氯离子的处理

为充分发挥银阳极功能,要有足够的氯离子与银离子反应。当阳极为供给电极时(即递送正电荷药物),添加氯化物盐会导致离子竞争并减小输送效率。为使阳离子竞争减到最小,最适合的方法是添加药物的氯化物盐<sup>[7]</sup>。不是所有的药物都有氯化物盐的形式可供使用,但很多药物可以通过离子交换转为氯化物,或通过加入HCl,使胺基质子化形成盐酸盐。

氯离子与银离子反应生成不溶于水的AgCl,其浓度在治疗过程中会减少,因此电解液中的氯化物必须有足够的

## L

量,才能保证整个治疗过程中电极正确运行。如果氯离子的浓度下降到不能清除自由银离子时,有可能会将银离子导入皮肤。为了避免银离子的迁移,电解液中要加入的氯离子量由许多因素决定,包括电解液体积、电流密度、治疗持续时间、从体内补足氯离子的速率(氯离子转运数)、电极和电解池的构造等。因为这些因素的相互作用常常很复杂,完全地从第一条原则难以构建一个通用的模型。然而,对于一个特定的电极/储库池组合,可以通过实验简单地测定银迁移发生时的氯离子浓度阈值,通过质量平衡公式计算所需的初始组成。通过测定极化的银电极电位可以判断银迁移的发生。当氯离子量不足时,银阳极电压以Nernstian方式增加,按经验,当阳极电位比Ag/AgCl标准参考电极电位高400mV时,会引起银离子的自由迁移<sup>[5]</sup>。

如果不能使用药物的氯化物盐,或其量不足以阻止银迁移,还有两个方法可以不在储库中引入可迁移阳离子,且能阻止银迁移的发生。一是使用阴离子选择性膜或涂层来固定银离子,或使用螯合剂;二是在供给池中用含有氯离子的树脂(如氯离子的季铵盐官能团)沉淀银离子<sup>[8]</sup>。

### 5. 氯化银作为消耗性阴极

式(8)显示的氯化银阴极反应是可逆反应,即氯化银可被还原成金属银和氯离子。氯化银阴极具有银阳极的许多性质,还有一些另外的特性:反应不会消耗电解质,具有亲水性,能被储库电解液湿润,不溶解的反应产物金属银具导电性,消除了氧化还原离子的极化和绝缘效应。以上性质导致氯化银电极的工作电压随着使用而降低,氯化银阴极的利用率接近100%。

氯化银阴极的运行会在电解液中累积氯离子,当电极作为反电极时可以不关心氯离子的增多,然而,当作为供给电极导入阴离子的药物时,由于离子竞争,氯离子的蓄积会导致药物流量的减少。短时间应用,这些效应可能是微不足道的,可是当氯离子的摩尔浓度接近药物的值得注意的分数时,将会发生实质上的竞争,一个简单但不一定实用的办法是增加药物含量,将氯离子摩尔浓度保持在分数阈值以下。需要增加的药物量可以用质量平衡方程计算,按照Faraday定律,氯离子蓄积速度由电流决定,而药物的量随着导入体内而减少,可以将两者进行比较。

## 处方组成

IDDS的处方为药物储库和平衡储库中的成分,通常有溶剂、药物盐或生物相容的盐、基质形成材料,处方中还可包括缓冲剂、抑菌剂、抗氧化剂、电解质盐或透皮促渗剂等。所有这些组分会发生复杂的相互作用,从而影响导入速率、生物相容性和产品的有效期。

### 1. 溶剂

制剂处方中选择溶剂时要考虑药物的溶解度和稳定性,

对于IDDS,还要考虑溶剂对药物荷电状态的影响。尽管中性药物分子可以通过电渗导入皮肤<sup>[9]</sup>,当药物有净电荷时才会达到最大的药物输送效率,因此优先选用介电常数较大的极性溶剂。例如,水、甘油和乙醇的介电常数分别是80、42和24。介电常数大的溶剂能促进药物盐的解离(即离子对少),从而增强药物在电场中的迁移。

水的介电常数大,生物相容性好,是常用的溶剂,其他的潜溶剂如乙醇、甘油、聚乙二醇和聚丙二醇可以提高药物的溶解度和稳定性,或减少水蒸发的速度。Sanderson和同事<sup>[10]</sup>使用40:60的水和乙醇混合溶剂以提高多巴酚丁胺盐酸盐的溶解度,结果多巴酚丁胺的透皮速率提高2倍。然而通过添加潜溶剂以提高药物的溶解度,有时会形成过多的离子对,减小电迁移的转运率。

Jadoul和同事<sup>[11]</sup>研究了在芬太尼和美托洛尔的水溶液中添加乙醇和丙二醇(PG)的影响,结果发现,含有60%的乙醇或PG的溶液药物的透皮流量减少80%。处方中导电性也降低了80%,表明在潜溶剂中有更多的离子缔合,另外溶剂也会直接作用于皮肤,改变其对药物离子的渗透性<sup>[12]</sup>。总之,在IDDS处方设计时要重点考虑溶剂和潜溶剂对药物溶解度、离子相互作用和皮肤渗透性的影响。

### 2. 药物盐

在IDDS处方设计时除了要考虑药物的溶解度、稳定性和生物相容性外,在选择药物盐时还要考虑几个特殊方面。反离子必须与电极上发生的电化学反应相适应,如前所述,使用银阳极时要优先选用药物的氯化物盐,如枸橼酸芬太尼用于注射剂,但枸橼酸盐不与电气化学产生的银离子形成不溶性盐,因此,在一个由患者控制的镇痛的IDDS中则采用特别开发的盐酸芬太尼<sup>[13]</sup>,临床试验结果在本章后面总结。

前面已提到,在选择溶剂时要重点考虑药物盐的解离程度,对于确定的溶剂(如水),要选择更易解离的药物盐,其药的输送也更有效。吗啡的乙酸盐、硫酸盐和盐酸盐的水溶液,解离度和透皮转运有相关性<sup>[14]</sup>。

离子淌度(单位电场作用下的速度)大部分取决于离子电荷,以及与处方或皮肤的物理相互作用,药物离子及其反离子在处方中的迁移性可能与在皮肤中不同。因此,有人提出药物反离子能改变处方与皮肤界面的pH,从而改变转运效率<sup>[10]</sup>。有报道异搏停、加洛帕米和纳布啡的琥珀酸盐比盐酸盐的转运效率高2倍,原因是在pH4.8时弱酸性的琥珀酸阴离子能缓冲皮肤表面界面层,从而避免了关键的氢离子竞争。

### 3. 基质

将药物溶解于液体溶剂中通常适合于进行体外试验,但不太适合在产品中使用。处方设计不仅应生物相容,还应能在工业化生产时方便地置于IDDS中,患者使用方便,在皮肤上没有残留物。为此,在IDDS中有两种机理不同的基质处方。



其一是将药物溶液用多孔的吸附性材料吸附, 如用聚酯或尼龙制成的亲水性的织物, 聚氨酯、聚乙烯醇或纤维素制成的亲水性多孔薄膜。为改善水化动力学和溶剂滞留, 在织物或泡沫基质中还加入亲水聚合物和表面活性剂<sup>[15]</sup> (如聚乙二醇、聚乙烯醇、聚乙吡咯烷酮、聚丙烯酰胺、聚羟乙基甲基丙烯酸酯) 和多糖 (如羟乙基纤维素、改性淀粉或天然胶)。非离子表面活性剂如 Tween 20<sup>®</sup>、乙氧化的碳 9-11 烷基醇 (Neodol91-6<sup>®</sup>) 和仲醇聚氧乙烯醚 (Tergitol 15-S-7<sup>®</sup>) 也能提高水化速度。聚合体的保水性质和多孔性薄膜的结构完整性, 提供了一个复合的基质材料, 在制造过程中或在患者使用之前能方便地吸附药物溶液, 在使用之前添加溶剂可以提高药物的稳定性, 特别是多肽和蛋白质药物。

其二是使用含水凝胶代替可以吸附药物溶液的多孔性的复合基质, 将药物和溶剂及形成网状结构的高分子材料混合, 配成黏稠溶液, 将该溶液置于含有适当极性的电极的容器中, 进行交联。为避免药物在交联过程中的降解, 首选物理交联法, 而不是化学或放射引发的交联反应。例如, 将聚乙烯醇与药物混合溶解于水中, 于 -20℃ 冰冻, 解冻后会形成柔软、黏性的、高含水量的水凝胶<sup>[16]</sup>。可以用其他的亲水性高分子材料如聚乙吡咯烷酮或者聚糖 (如羟甲基乙基纤维素) 调节聚乙烯醇水凝胶的流变性、黏性和保水性<sup>[17]</sup>。

在 IDDS 处方中通常使用极性的非电离的高分子材料, 使用非电离的材料是因为其不含可迁移的离子, 不与药物离子发生强烈的相互作用。不过也有采用离子型聚合物作基质的研究报道, 如 Gupta 和同事采用聚甘油甲基丙烯酸酯和水制备的基质, 发现色甘酸钠的转运量有明显减小, 他们认为色甘酸阴离子和聚合物之间有较强的相互作用<sup>[12]</sup>。

相反, 在透皮离子导入药物阳离子氢化吗啡酮时, 用水和聚丙烯酰胺-甲基丙烷-磺酸盐 (poly AMPS) 制成水凝胶, 能提高转运量<sup>[8]</sup>。将酸式 pol-AMPS、水和按化学式计算量的氢化吗啡酮碱基制成水凝胶, 氢化吗啡酮碱基与 poly-AMPS 形成氢化吗啡酮盐, 还加入盐酸氢化吗啡酮, 水凝胶与银阳极接触。电流密度 0.05mA/cm<sup>2</sup>, 接收液 0.1mol/L 氯化钠溶液, 进行氢化吗啡酮透离体猪皮的离子导入试验, poly-AMPS 水凝胶的转运量是非电离的聚乙烯醇水凝胶的两倍。结果表明氯离子从皮肤进入水凝胶的迁移被不迁移的磺酸盐阴离子抑制 (离子的排斥或称为 Donnan 排斥效应)。

#### 4. 赋形剂

在 IDDS 处方设计时为提高药物稳定性, 常加入缓冲液、抑菌剂、抗氧化剂和螯合剂, 在选择赋形剂时需要考察一些特殊的指标。

如前所述, 赋形剂会接触系统电极, 因此要考察赋形剂与电极的相容性。消耗性电极如 Ag 和 AgCl 反应活性大, 如使用本身不起反应的电极, 如铂或石墨, 在系统使用过程中赋形剂必须承受较高的电极电位, 此时要选择稳

定的赋形剂。可以采用标准电势测定技术 (如循环伏安法) 先测定赋形剂的电气化学稳定性, 再决定能否用于 IDDS 处方中。

赋形剂, 特别是离子型赋形剂对于药物转运的影响也要考虑, 如果赋形剂具有与药物离子一样的电荷, 将会与药物一同被导入皮肤。除了直接竞争影响药物转运外, 赋形剂还会改变皮肤的渗透选择性, 从而改变药物转运效率。如果选择与药物离子带相反电荷的赋形剂, 要考虑赋形剂反离子对药物转运的影响。因为 IDDS 处方中通常含有水, 难以使用亲脂性的赋形剂, 而使用赋形剂的盐形式。然而, 赋形剂盐常常含有无机阳离子, 比药物阳离子更容易迁移, 已有很多文献证明无机阳离子对药物阳离子的转运量有抑制作用<sup>[18]</sup>。特别是处方中的无机阳离子消耗速度远快于药物阳离子, 药物的转运量不能恒定, 随着使用时间的延长而增加。缓冲阴离子对阴离子的药物的竞争性抑制也有文献报道<sup>[19]</sup>。

尽管磷酸盐和柠檬酸盐缓冲液已经成功地用于药物离子的透皮离子导入系统处方中, 由于竞争性抑制, 小的无机和有机离子对药物转运通常是不利的, 因此选择缓冲体系难度很高。针对 IDDS, 人们开发了独特的缓冲体系: 一是在等电点使用两性离子缓冲液, 两性离子净电荷数为零, 大部分避免了离子竞争效应, 两个首选的两性离子缓冲液是 *N*-2-羟乙基哌嗪-*N'*-2-乙烷磺酸 (HEPES) 和 2-*N*-吗啉代丙烷磺酸 (MES)。另外, 在阴极储库使用阳离子的缓冲液, 在阳极储库使用阴离子的缓冲液, 可以在很大程度上避免导入缓冲离子, 在外加电场的作用下, 缓冲离子迁移离开皮肤。除了常见的弱酸 (如枸橼酸和磷酸), 有人建议在阳极处方中使用氨基酸。氨基酸 (如半胱氨酸和组氨酸) 可以在中性或碱性 pH 下加入处方, 此时主要荷负电<sup>[20]</sup>。二是在处方中添加含有酸性或碱性基团的高分子材料<sup>[10,20]</sup>, 如聚丙烯酸和异丁烯酸-联乙烯苯共聚物缓冲体系 (如离子交换树脂 Amberlite IRP-64), 这些聚合物具有非常高的相对分子质量, 在电场中固定不动。还要考虑离子交换树脂的反离子, 最好与药物离子带相反的电荷, 以避免离子竞争。还可以选择具有内在缓冲能力的药物反离子<sup>[10]</sup>。所有这些方案, 总的目标是与药物离子相比, 最小化缓冲剂及其反离子的迁移, 可以选择净电荷数为零的缓冲液, 选择其可迁移离子与药物离子相反的缓冲液, 或增大缓冲剂的相对分子质量。

处方中还可使用赋形剂以提高药物的转运效率, 如 Sanderson 和同事<sup>[10]</sup>报道了将皮肤用阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠 (SLS) 预处理后, 多巴酚丁胺的转运量提高 3 倍。其原因是由于中和了皮肤表面的正电荷, 皮肤的负电荷增加, 同时表面活性剂促进了疏水性药物与皮肤的接触。更准确地说, Sanderson 和同事认为转运途径中负电荷的增加能阻止氯离子转运出体内, 从而提高药物阳离子的迁移。他们认为尽管 SLS 生物不相容, 如果采用其他生物相容性更好的表面活性剂, 改变电荷方法还是有用的。

另外, Huntington 等<sup>[21]</sup>使用非离子型表面活性剂, 包

## L

括十二烷醇和 1, 2-十二烷基二醇, 以提高阴离子的药物酮洛芬的转运。由于非离子型表面活性剂不受外加电场的影响, 其使用应优于离子型表面活性剂。

有些药物和赋形剂会引起过度的皮肤刺激<sup>[22]</sup>。研究人员为减少人体的皮肤刺激性, 在处方中加入消炎剂<sup>[23]</sup>。在使用中等刺激的止吐药物甲氧氯普胺片时, 在处方中加入氢化可的松能改善生物相容性, 处方中 0.05% 的氢化可的松能明显地减轻治疗部位的皮肤发红现象。他们还报道氢化可的松对甲氧氯普胺阳离子的转运没有影响。

## 5. 处方 pH

很多药物在较宽的 pH 范围内其溶解度和稳定性均适合于透皮离子导入, 然而, 最佳的药物递送和生物相容性要求常将处方的 pH 局限于一个较窄的范围内。如前面所讨论的, 皮肤是一个渗透选择性膜, 等电点 pH 约为 4, 因此, 处方 pH 能影响皮肤对阳离子和阴离子的选择性。当处方 pH 增加时, 皮肤表面负电荷增多, 有利于阳离子转运。因此, 为提高阳离子药物的透皮转运, 处方 pH 应该尽可能大, 当然也受到药物溶解度、荷电状态、稳定性和生物相容性的限制。与此类似, 对于阴离子药物, 应优先选用酸式处方。

处方 pH 对于皮肤渗透选择性的影响已有清楚的证明<sup>[24]</sup>: 当含有水杨酸阴离子的溶液 pH 从 4 提高到 6 和 8 时, 水杨酸阴离子在  $200\mu\text{A}/\text{cm}^2$  的透皮转运速率从  $480\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$  分别减小到  $192\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$  和  $174\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$ 。相反, 随着同样的 pH 增加, 三乙胺阳离子的转运速率从  $117\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$  分别增加到  $170\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$  和  $303\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$ 。

处方设计必须保证足够的药物转运, 同时确保良好的生物相容性。一些研究者发现处方 pH 对皮肤刺激性有实质性的影响<sup>[10, 20, 25]</sup>。通过测量无毛豚鼠治疗部位皮肤的发红程度, Cormier 和 Johnson<sup>[23]</sup>发现阳极和阴极处方选择不同的 pH 范围能减少皮肤刺激性。对于阳极, pH 在 4~10 之间皮肤影响最小; 对于阴极, pH 为 2~4 刺激性最小。

## 6. 平衡储库的电解质

选择与反电极接触的合适电解质, 要有良好的导电性, 从而在系统使用时所需的电压最小。所需的最小电导率  $\sigma$ 、水凝胶两侧的电压降  $\Delta V$ 、水凝胶的厚度  $L$ 、横截面积  $A$  和电流强度  $I$  有如下的关系:

$$\sigma = IL/(\Delta VA) \quad (9)$$

例如, 如果处方的电导率不小于  $50\mu\text{S}/\text{cm}$ , 水凝胶的厚度为 0.5cm, 横截面积为  $5\text{cm}^2$ , 电流强度为 0.5mA 时, 电压降小于 1V。

因为处方电导率对溶解度和离子对效应灵敏, 该参数可以用于进行处方筛选。Gangarosa 和同事<sup>[26]</sup>以及 Yoshida 和 Roberts<sup>[19]</sup>研究了在 IDDS 处方设计时药物和电解液电导率的影响。

除了处方要提供足够的导电性, 从不含药电极递送的

离子还应是生物相容的<sup>[27]</sup>, 他们报道阳极储库中使用 0.9% 的 NaCl 或 KCl, 电流密度为  $0.5\text{mA}/\text{cm}^2$  和  $1\text{mA}/\text{cm}^2$ , 离子导入 1h, 对家兔皮肤无刺激性, 相反, 0.9%  $\text{CaCl}_2$  或  $\text{MgCl}_2$  引起中等程度的皮肤发红。

平衡储库中采用合适 pH 的弱酸和弱碱电解液, 如阴极  $\text{pH} < 4$ 、阳极  $\text{pH} > 4$ , 生物相容性较好, 皮肤电阻小<sup>[20]</sup>。皮肤电阻小比较有利, 此时控制电路的电压输出更低, IDDS 所需的电池更小, 因而可减小体积和成本。当电流密度大于  $0.2\text{mA}/\text{cm}^2$  时, 皮肤的透皮离子导入时的感觉与递送进入皮肤的离子种类有关, 在受试者左右前臂分别导入不同的离子, 比较皮肤的感觉, 结果感觉由弱到强依次为: 钙离子 < 磷酸盐、镁离子和锌离子 < 氯离子、乙酸盐、柠檬酸盐和硫酸盐 < 锂离子、钾离子和钠离子。通常, 多价离子比单价离子对皮肤的刺激小<sup>[28]</sup>。

## 电子元件

IDDS 独特的电学性质提供了一个更高水平的给药控制, 它还能够提供其他的给药方式少有的信息反馈。

离子导入治疗中有两种电学方式: 一是控制外加电压; 二是控制外加电流。一种简单的控制电压电路的方法是用电池给电极施加恒压。然而, 如下文要指出的, 个体之间或治疗开始到结束时皮肤电阻不是恒定的, 恒压产生的电流是变化的。由于药物递送速率与通过的电流成正比, 应首选控制电流的方式。

IDDS 的电子控制模块有两部分: 电源和控制电路。

### 1. 电源

手提式 IDDS 的电源是电池, 商品原电池的电压为 1.2~3.0V, 为了克服皮肤的电阻, 达到所需的电流, 有必要使用较高的电压。可以把电池串联以提高电压, 或采用升压电路, 但会消耗更大的电池电流。额外消耗的电流需要更大的电池容量, 因此, 所需的总的电池容量是治疗所需的加上电路中消耗的。

电路的第一个目的是控制给药剂量, 对于零级系统, 在不同的给药部位均要保持指定的电流。此时计算所需电源很困难, 因此皮肤电阻在不同给药部位和用药后时间是不同的<sup>[29]</sup>。图 2 显示了在  $4\text{cm}^2$  面积  $1\text{mA}$  电流作用下不同部位皮肤的电阻。在施加  $1\text{mA}$  电流前 2min, 用  $10\mu\text{A}$  的小电流测定皮肤电阻, 该值变化幅度很大, 平均值约  $200\text{k}\Omega$ , 施加  $1\text{mA}$  电流 1s 后, 电阻减小至  $(16 \pm 4)\text{k}\Omega$ 。随着时间推移, 电阻持续下降, 所有部位均接近一稳定的值  $(7.4 \pm 1.3)\text{k}\Omega$ , 拟稳态的 RSD (18%) 与初始的 (92%) 相比说明, 尽管开始前差异很大, 施加电流后身体各部位均趋向相同的电阻。原因可能是由于角质层内离子浓度增加, 离子电导率随之增加, 同时旁路通道也打开<sup>[3]</sup>。

皮肤典型的初始电阻值为  $200\text{k}\Omega$ , 电流为  $1\text{mA}$  时所需的电压为 200V, 因而输出电压为 10~20V 的系统, 开始使用时电流将低于所需值, 即不符合要求。然而, 由于电阻

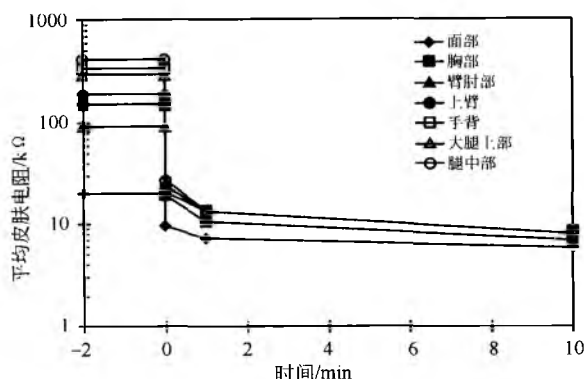


图2 人体不同部位的皮肤电阻随治疗时间的变化曲线<sup>[29]</sup>

很快下降, 10~20V 的电压在可以接受的短时间后 (1min 或更短) 能达到要求。

## 2. 控制电路

控制电流电路并不需要高度复杂的电路设计, 一个简

单的场-效应晶体管和反馈电阻就能在很宽的皮肤电阻范围内维持电池输出恒定的电流。其他类型的给药要求, 如脉冲电流、患者按需控制剂量、剂量滴定、剂量递增或递减, 及其他特殊波形均可以通过控制电路实现。此时通常采用集成电路以减小系统体积。

可视和声频反馈信息可以通过发光二极管 (LED)、液晶显示 (LCD) 和压电式传感器提供, 这些信息能显示系统运行、出错或报警, 或需要维护 (或更换电池), 或显示已经输送的药物剂量。

IDDS 电子控制用药的能力还有一个优势: 可以建立基于传感器的或闭环的生物感应的治疗模式, 如使用胰岛素制剂后测定血糖水平的响应, 然后电路调整输出电流, 进而调整给药。为此, 可设计一个自动化的、闭环的系统, 确保导入适量的药, 避免患者用药过量和不足。如图 3 所示, 电子元件安装于印刷电路板, 置于含有电极和水凝胶处方的保护装置内。

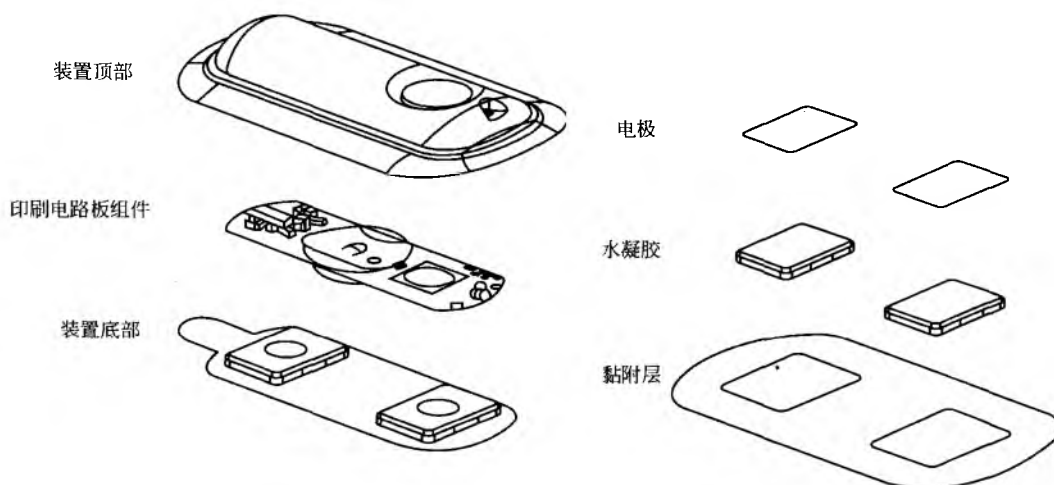


图3 离子导入装置的剖面图, 显示主要的部件: 顶部、印刷电路板、底部 (有电极和水凝胶)、黏附层

## 全身给药的临床评价

在以下的临床试验中, 用实例说明了很多以前讨论的给药特性, 另外简要论述了体外试验的方法, 以考察与体内试验结果的良好相关性。

### 1. 芬太尼的临床研究

芬太尼碱基的分子质量为 336Da, 盐酸盐的水中溶解度约 24mg/mL, 在较宽的 pH 范围内带 +1 价电荷, 为合成的阿片样化合物, 广泛用于麻醉和镇痛。该药的被动透皮系统已经上市, 用于慢性疼痛 (Duragesic, 杨森制药), 能连续 72h 透皮递送芬太尼。对于剧痛, 如手术后疼痛, 被动地透皮输送芬太尼地起效慢, 是不合适的。然而, 临

床上使用 IDDS 系统输送芬太尼, 很快达到治疗血药浓度, 镇痛起效很快<sup>[30,31]</sup>。另外离子导入的电学性质允许患者感到疼痛时开始使用芬太尼, 对于被动的给药这是不可能的<sup>[32]</sup>。

临床研究中使用的 IDDS 是一个以电池为电源、可重复使用的控制器, 连接一次性的药物贴片, 能输送患者设定的剂量。药物贴片中含有一个银阳极和一个氯化银阴极, 与弹性泡沫保护层中的水凝胶储库紧密接触。药物贴片含相当于 5mg 碱基的芬太尼盐酸盐, 水凝胶供给池的皮肤接触面积为 2cm<sup>2</sup>。一次性的药物贴片置于健康志愿者的上外臂, 芬太尼的阿片样效应由每 12h 口服一次纳曲酮加以阻断。

12 名受试者进行了四周交叉试验, 三组为 IDDS, 一组为静脉注射。所有组 24h 内在每 1h 的前 20min 用药。三

个 IDDS 组的电流分别为  $150\mu\text{A}$ 、 $200\mu\text{A}$  和  $250\mu\text{A}$ ，静脉注射组注射  $50\mu\text{g}$  芬太尼，采集血样，放射免疫法测定血清中芬太尼浓度。图 4 为第 1、13 和 25 次治疗后的血药浓度曲线，药时曲线的逐渐增高是由于芬太尼每小时给药后清除不完全所致。所有治疗组血清芬太尼浓度在用药后几分钟快速增加。

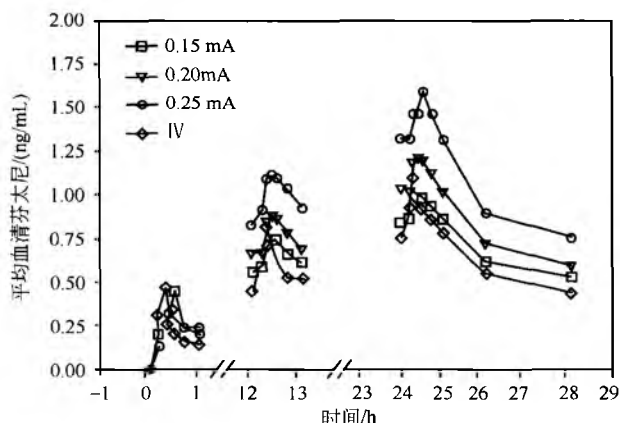


图 4 12 名健康志愿者服用芬太尼 1、13 和 25 剂量后的血清浓度，离子导入系统以 3 种不同的电流每小时给药 20min，连续 24h 间歇给药，静脉滴注为每小时滴 20min，剂量  $50\mu\text{g}$ <sup>[31]</sup>

第 24 和 25 小时之间的 20 分钟给药期间， $150\mu\text{A}$ 、 $200\mu\text{A}$  和  $250\mu\text{A}$  组的平均药物导入速率分别是  $81\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$ 、 $108\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$  和  $138\mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{cm}^2)$ 。三个 IDDS 组的给药速率、平均最大血药浓度值和总的 AUC 值均随电流增加而增大，符合式 (1) 的理论。另外，IDDS 组和 IV 组的芬太尼药动学参数相似，表明 IDDS 组的给药剂量的精确程度和静脉注射相似。

芬太尼体内透皮速率值与体外用人离子皮肤的透皮速率值接近，芬太尼体外透皮实验是用两室扩散池进行的。热剥离的人皮肤的角质层在供给室与芬太尼盐酸盐接触，供给溶液 pH 和芬太尼浓度与临床研究的供给处方的 pH 和浓度一致。

为了建立良好的体外/体内相关性，接收溶液的组成和离子强度要进行校正<sup>[18]</sup>。对于芬太尼，接收溶液为稀释 10 倍的 Dulbecco 磷酸盐生理盐水缓冲液（无钙或者镁，pH 为 7.4）时，相关性最好。采用恒流源、银阳极和氯化银阴极，体外测试的电流为  $0\sim 400\text{mA}$ ，图 5 所示的体外数据清楚地说明了芬太尼给药与电流线性相关，且与体内数据非常相关。

## 2. 促黄体生成素释放激素的临床研究

多肽、蛋白质和低聚核苷酸的全身给药对药剂学家提出许多重要的挑战，由于这些药在胃肠道中大部分被代谢，并适合口服给药。这些化合物通常相对分子质量大，具亲水性，荷电与 pH 相关，不适合被动透皮给药，但特别适合于离子导入给药<sup>[33]</sup>。

促黄体生成素释放激素 (LHRH) 为天然的性激素，含有 10 个氨基酸，分子质量约 1200Da，近中性 pH 时带 +1 价电荷。下丘脑脉冲释放 LHRH 刺激脑下垂体产生促性腺激素，

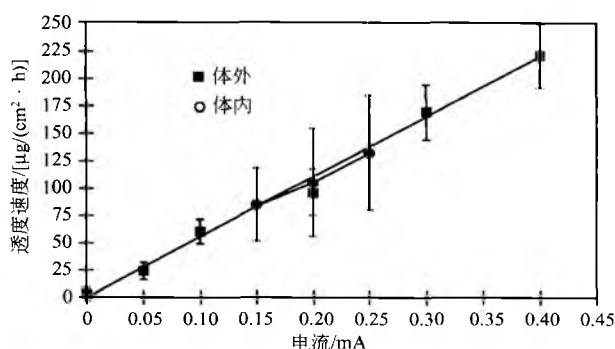


图 5 不同电流作用下体外 ( $n=5$ ) 和体内 ( $n=13$ ) 芬太尼透皮速率比较<sup>[13]</sup>

如促黄体生成激素 (LH)，从而维持女性的生殖功能。相反，连续不断地分泌促黄体素释放激素则关闭生殖轴。

利用透皮离子导入技术能实现连续的或脉冲的 LHRH 给药模式。Heit 和同事已证明连续 LHRH 透皮离子导入是可行的<sup>[34]</sup>。连续透皮离子导入亮丙瑞林，即 LHRH 的 9 个氨基酸的类似物，在临床也是成功的<sup>[35]</sup>。

对健康男性志愿者进行了使用 IDDS 不连续脉冲离子导入输送 LHRH 的临床研究<sup>[36]</sup>，临床试验系统包含一个含有  $15\text{mmol/L}$  LHRH 盐酸盐的  $8\text{cm}^2$  水凝胶，与银阳极接触，8 名受试者每隔 2h 给药 15min，电流为  $0.8\text{mA}$ （相当于电流密度  $0.1\text{mA}/\text{cm}^2$ ），试验共 8h，血浆中 LHRH 和 LH 浓度见图 6。一次静脉内注射  $5\mu\text{g}$  的血浆 LHRH 浓度作为对照。结果表明采用合适的离子导入条件，实现 LHRH 的脉冲给药是可行的。有意思的是，IDDS 给药的血浆 LHRH 曲线与静脉注射相似，4 个连续的 15min 给药产生的血浆 LHRH 曲线峰浓度平均达  $450\text{pg/mL}$ 。两次用药之间血浆 LHRH 水平快速降至可以忽略的基线值，与静脉注射给药一致。血浆 LHRH 水平涨落比皮下注射迅速<sup>[37]</sup>。

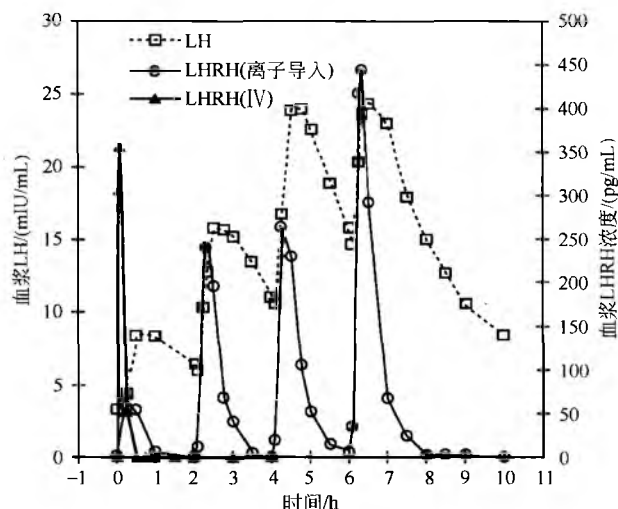


图 6 8 名健康男性志愿者每 2 h 给药 15min，电流密度  $0.1\text{mA}/\text{cm}^2$  和静脉注射  $5\mu\text{g}$  后的平均血浆 LHRH 浓度。还给出了离子导入 LHRH 后血浆中 LH 的平均水平<sup>[36]</sup>

每次 LHRH 给药后, 血浆 LH 药效响应也呈脉冲模式, 平均最大值浓度约 26mIU/mL, 与芬太尼相似, LHRH 离子导入的血浆数据的差异度与静脉注射给药相似。

虽然离子导入还没有广泛应用, 但该领域进展很快, 数家公司, 包括 Cygnus、Becton Dickinson 和 ALZA, 均在开发小的贴片似的装置, 用于葡萄糖取样和治疗药物的全身给药。如果商业上成功了, 这些努力将会大大拓展离子导入在全身治疗中的应用。

### 参考文献

1. Banga, A. K. Electrically Assisted Transdermal and Topical Drug Delivery; Taylor and Francis: Bristol, PA, 1998.
2. Leduc, S. Electric Ions and Their Use in Medicine. Rebmman Ltd.; Liverpool, UK, 1908.
3. Scott, E. R.; Phipps, J. B.; White, H. S. Direct Imaging of Molecular Transport Through Skin. *J. Invest. Dermatol.* 1995, 104, 142—145.
4. Lindblad, L. E.; Ekenvall, L. Electrode Material in Iontophoresis. *Pharm. Res.* 1987, 4, 438.
5. Phipps, J. B. Electrode and Reservoir Design for Optimal Transdermal Delivery by Iontophoresis. Transdermal Administration, A Case Study, Iontophoresis; APGI/CRS European Symposium, Couvreur, P., Duchene, D., Green, P., Junginger, H. E., Eds.; 3—4 March 1997, Paris, France Editions de Sante; Paris, 1997; 30—39.
6. Sanderson, J. E.; Deriel, S. R. Method and Apparatus for Iontophoretic Drug Delivery. US Patent 4 722 726, 1988.
7. Philips, J. B.; Untereker, D. F. Iontophoresis Apparatus and Methods of Producing Same. US Patent 4 744 787, 1988.
8. Philips, J. B.; Howland, W. W.; Jevne, A. H.; Holmblad, C. Device and Method for Iontophoretic Drug Delivery. US Patent 5, 558, 633, 1996.
9. Pikal, M. J. The Role of Electroosmotic Flow in Transdermal Iontophoresis. *Adv. Drug Del. Rev.* 1992, 9, 201—237.
10. Sanderson, J. E.; Reil, S. D.; Dixon, R. Iontophoretic Delivery of Nonpeptide Drugs: Formulation Optimization from Maximum Skin Permeability. *J. Pharm. Sci.* 1989, 78, 361—364.
11. Jadoul, A.; Regnier, V.; Preat, V. Influence of Ethanol and Propylene Glycol Addition on the Transdermal Delivery by Iontophoresis and Electroporation. *Pharm. Res.* 1997, 14, S308—S309.
12. Gupta, S. K.; Kumar, S.; Bolton, S.; Behl, C. R.; Malick, A. W. Effect of Chemical Enhancers and Conducting Gels on Iontophoretic Transdermal Delivery of Cromolyn Sodium. *J. Controlled Release* 1994, 35, 229—236.
13. Lattin, G. L.; Phipps, J. B.; Southam, M. A.; Klausner, M. Evaluation of Fentanyl Delivery in Humans Using E-TRANS Technology. Transdermal Administration, A Case Study, Iontophoresis; APGI/CRS European Symposium, Couvreur, P., Duchene, D., Green, P., Junginger, H. E., Eds.; 3—4 March 1997, Paris, France Editions de Sante; Paris, 1997; 365—368.
14. Corish, J.; Corrigan, O. I.; Foley, D. The Iontophoretic Transdermal Delivery of Morphine Hydrochloride and other Salts Across Excised Human Stratum Corneum, Proceedings of the Conference on Prediction of Percutaneous Penetration; Methods, Measurements, Modeling, April 1989 International Conference; Scott, R. C., Guy, R. H., Hagraft, J., Eds.; IBC Technical Services Ltd.; London, 1990; 302—307.
15. Beck, J. E.; Lloyd, L. B.; Petelenz, T. J. Iontophoretic Delivery Device with Integral Hydrating Means. US Patent 5, 730, 716, 1998.
16. Hyon, S. H.; Yoshito, I. Transdermal Therapeutic Composition. US Patent 4, 781, 926, 1988.
17. Jevne, A. H.; Vegoe, B. R.; Holmblad, C. M. Hydrophilic Pressure Sensitive Biomedical Adhesive Composition. US Patent 4, 593, 053, 1986.
18. Phipps, J. B.; Gyory, J. R. Transdermal Ion Migration. *Adv. Drug. Del. Rev.* 1992, 9, 137—176.
19. Yoshida, N. H.; Roberts, M. S. Prediction of Cathodal Iontophoretic Transport of Anions Across Excised Skin from Different Vehicles Using Conductivity Measurements. *J. Pharm. Pharmacol.* 1995, 47, 883—890.
20. Cormier, M. J.; Ledger, P. W.; Johnson, J.; Philips, J. B.; Chao, S. Reduction of Skin Irritation and Resistance During Electrotransport. US Patent 5 624 415, 1997.
21. Huntington, J. A.; Cormier, M. Composition, Device and Method for Electrotransport Agent Delivery. US Patent 5, 811, 465, 1998.
22. Ledger, P. W. Skin Biological Issues in Electrically Enhanced Transdermal Delivery. *Adv. Drug Del. Rev.* 1992, 9, 289—307.
23. Cormier, M.; Johnson, B. Skin Reactions Associated with Electrotransport. Transdermal Administration, A Case Study, Iontophoresis; APGI/CRS European Symposium, Couvreur, P., Duchene, D., Green, P., Junginger, H. E., Eds.; 3—4 March 1997; Paris, France Editions de Sante; Paris, 1997; 50—57.
24. Nightingale, J.; Sclafani, J.; Kurihara-Bergstrom, T. Effect of pH on the Iontophoretic Delivery of Ionic Compounds, Proceedings of the 17th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, Reno, Nevada, July 22—25, 1990; Lee, H. E., Ed.; Controlled Release

L

- Society; Lincolnshire, IL, 1990; 17, 431—432.
25. Phipps, J. B.; Cormier, M.; Padmanabhan, R. In Vivo Ion Efflux from Humans and the Relationship to Skin Irritation. Transdermal Administration, A Case Study, Iontophoresis; APCI/CRS European Symposium, Couvreur, P., Duchene, D., Green, P., Junginger, H. E., Eds.; 3—4 March 1997; Paris, France Editions de Sante; Paris, 1997; 289—291.
26. Gangarosa, L. P.; Park, N. H.; Fong, B. C.; Scott, D. F.; Hill, J. M. Conductivity of Drugs Used for Iontophoresis. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 1439—1443.
27. Anigbogu, A.; Singh, P.; Liu, P.; Dinh, S.; Maibach, H. Effects of Iontophoresis on Rabbit Skin In Vivo. Pharm. Res. 1997, 14, S—308.
28. Philips, J. B. Method for Reducing Sensation in Iontophoretic Drug Delivery. US Patent 5, 221, 254, 1993.
29. Gyory, J. R.; Phipps, J. B. Effect of Current Density and Current Duration on the Membrane Resistance of Skin. Transdermal Administration, A Case Study, Iontophoresis; APCI/CRS European Symposium, Couvreur, P., Duchene, D., Green, P., Junginger, H. E., Eds.; 3—4 March 1997; Paris, France Editions de Sante; Paris, 1997; 262—265.
30. Gupta, S. K.; Bernstein, K. J.; Noorduyn, H.; Van Peer, A.; Sathyan, G.; Haak, R. Fentanyl Delivery from an Electrotransport System: Delivery is a Function of Total Current, not Duration of Current. J. Clin. Pharmacol. 1988, 38, 951—958.
31. Gupta, S. K.; Southam, M.; Sathyan, G.; Klausner, M. Effect of Current Density on Pharmacokinetics Following Continuous or Intermittent Input from a Fentanyl Electro-transport System. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 976—981.
32. Thysman, S.; Tasset, C.; Preat, V. Transdermal Iontophoresis of Fentanyl; Delivery and Mechanistic Analysis. Int. J. Pharm. 1994, 101, 105—113.
33. Delgado-Charro, M. B.; Guy, R. H. Iontophoretic Delivery of Nafarelin Across the Skin. Int. J. Pharmaceut. 1995, 117, 165—172.
34. Heit, M. C.; Williams, P. L.; Jayes, F. L.; Chang, S. K.; Riviere, J. E. Transdermal Iontophoretic Peptide Delivery: In Vitro and In Vivo Studies with Luteinizing Hormone Releasing Hormone. J. Pharm. Sci. 1993, 82, 240—243.
35. Meyer, R. B.; Kreis, W.; Eschbach, J.; O'Mara, V.; Rosen, S.; Sibalis, D. Transdermal versus Subcutaneous Leuprolide: A Comparison of Acute Pharmacodynamic Effect. Clin. Pharmacol. Ther. 1990, 48, 340—345.
36. Scott, E. R.; Phipps, J. B.; Gyory, J. R.; Padmanabhan, R. V. Electrotransport Systems for Transdermal Delivery: A Practical Implementation of Iontophoresis. Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology; Wise, D., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000.
37. Handelsman, D. J.; Jansen, R. P. S.; Boylan, L. M.; Spaliviero, J. A.; Turtle, J. R. Pharmacokinetics of Gonadotropin-Releasing Hormone: Comparison of Subcutaneous and Intravenous Routes. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1984, 59, 739—746.
38. Banga, A. K.; Chien, Y. W. Iontophoretic Delivery of Drugs; Fundamentals, Developments and Biomedical Applications. J. Contr. Rel. 1998, 7, 1—24.
39. Burnette, R. R. Iontophoresis. Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives; Hadgraft, J., Guy, R. H., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 247—292.
40. Singh, P.; Maibach, H. I. Iontophoresis in Drug Delivery: Basic Principles and Applications. Crit. Rev. Ther. Drug. Carr. Syst. 1994, 11, 161—213.
41. Tyle, P. Iontophoretic Devices for Drug Delivery. Pharm. Res. 1986, 3, 318—326.

### 进一步阅读

For additional examples of In Vitro and In Vivo Iontophoretic Drug Delivery Studies and Techniques, the Reader is Directed to the Comprehensive Reviews by Banga (1), Banga and Chien (38), Burnette (39), Singh and Maibach (40), and Tyle (41).

(王 浩 张晓红 译)

# 量热技术在药物研究与开发中的应用

Sophie-Dorothée Clas

Chad R. Dalton

Merck Frosst Canada & Co., Pointe Claire-Dorval, Quebec City, Canada

Bruno C. Hancock

Pfizer Inc., Groton, Connecticut, U. S. A.

## 引言

量热技术用于测量物质内部能量的变化,该变化表现为热量释放时的放热过程或热量消耗时的吸热过程(表1)。通常测定的是能量的变化值(而非绝对值),当样品质量确定时则可定量测试。一些先进的、定制的仪器还可在监测能量变化的同时检测其他理化变化,如质量的变化。显微镜差示扫描量热仪也是其中的一种(microscope-DSC)<sup>[1]</sup>。

量热技术在药物科学中应用最普遍的是DSC的一个分支和微量热法。获“State-of-art”称号的DSC和微量热法的灵敏度已非常高,并成为药物科学工作者强有力的分析工具。

DSC通常采用控制样品加热和(或)冷却的方式,而微量热法则是在恒定的样品温度下检测热量。DSC仪器是整套“热分析”的一部分,读者可参阅本书的热分析部分,以获取更多信息。

本章首先简要介绍了热力学的有关知识;其次,对差示扫描量热技术包括仪器、校正和应用进行了介绍;进而对微量热技术也进行了介绍,包括微量热法、仪器和校正;最后,对量热技术的管理法规进行了评论。在DSC部分还简要描述了基本的物理和化学的转变和反应。

## 热力学

热力学原理是量热技术的基础,下面简要介绍基本原理。对热力学不熟悉的读者请参阅文献<sup>[2,3]</sup>。

量热计是由一个与外界隔离的容器所组成,它可以测量系统与环境之间的热量传递。“环境”是指量热计和它的包容物,“系统”则指化学反应或物理形态的变化。系统能从环境中吸收热量(吸热)或将热量释放到环境中去(放热)。由于环境吸收了从系统释放的热量,放热变化将导致环境温度的增加。隔离系统的能量保持恒定,系统能量与环境能量的变化值相等,但方向相反(热力学第一定律——能量守恒定律),而当环境提供给系统吸收的能量时,系统的吸热变化将引起环境温度的降低。

表1 常见热分析应用

反应类型	实 例
吸热	
熔融	药品物质的熔化;纯度评价
蒸发	液体或半固体赋形剂的蒸发
升华	在冻干时除去水分
脱附	潮湿颗粒样品的干燥
去溶剂	结晶水合物中化学计量水的去除
放热	
结晶	溶剂蒸发导致无定形赋形剂的结晶
沉淀	药物盐的形成
凝固	半固态赋形剂熔融颗粒的凝固
吸附	药物对溶剂蒸气的吸附
化学吸附	
溶剂化	赋形剂吸附水蒸气
树脂固化	聚合包装材料的固化
其他	
玻璃化转变	玻璃化转变温度根据含水量的变化
玻璃化的松弛	无定形药物在储藏或退火中的热熔释放
分解	药物的热分解
溶解	药物在溶媒中的分散
复合	药品和环式糊精合成的复合体

假设系统是密闭的,DSC和微量热法通常是如此,任何反应或相变与路径无关,均可分为更小的可逆步骤(Hess累积定律)<sup>[2,3]</sup>。热力学第一定律指出,能量既不会产生也不会消失。它定义内能 $dU$ 为传递至系统的能量变化 $dq$ 和系统做功 $dw$ 的总和。

$$dU = dq + dw \quad (1)$$

当压力恒定时,式(1)可以用热焐 $H$ 表示。系统与环境之间总的能量交换为热焐变化( $dH$ ),是系统内能变化 $dU$ 和做功量变化 $PV$ 的总和。

$$dH = dU + PdV \quad (\text{压力不变时}) \quad (2)$$

在体积变化可以忽略及系统不做净功时(固体和液体近似于此),等式简化为

$$(dU)_p = (dH)_p = (dq)_p \quad (3)$$

因此,热焐实际上等于从系统增加或失去的热量。热焐的变化可直接通过量热计测量( $dq$ 热流)。

系统输入或输出热量 $dq$ 等于热焐的变化 $dH$ ,而 $dH$ 与热容 $C_p$ 有关。

L

$$dq = dH = \int_{T_1}^{T_2} C_p dT \quad (4)$$

系统温度的增加（从  $T_1$  到  $T_2$ ）是热容的函数。如果  $C_p$  值很大，一定量热量的输入，只会引起系统温度的微小增加。

## DSC

差示扫描量热技术是测定样品和参比之间的热量交换随时间和样品的温度变化情况，它可以获取有关样品理化性能变化的定性或定量信息。DSC 广泛地应用于制药工业中化合物的熔点、纯度及玻璃化转变温度的测定。

### 1. 仪器

目前有两种商品化的差示量热仪，分别称为差热分析仪 DTA 和差示扫描量热仪 DSC，操作类似，但原理不同。

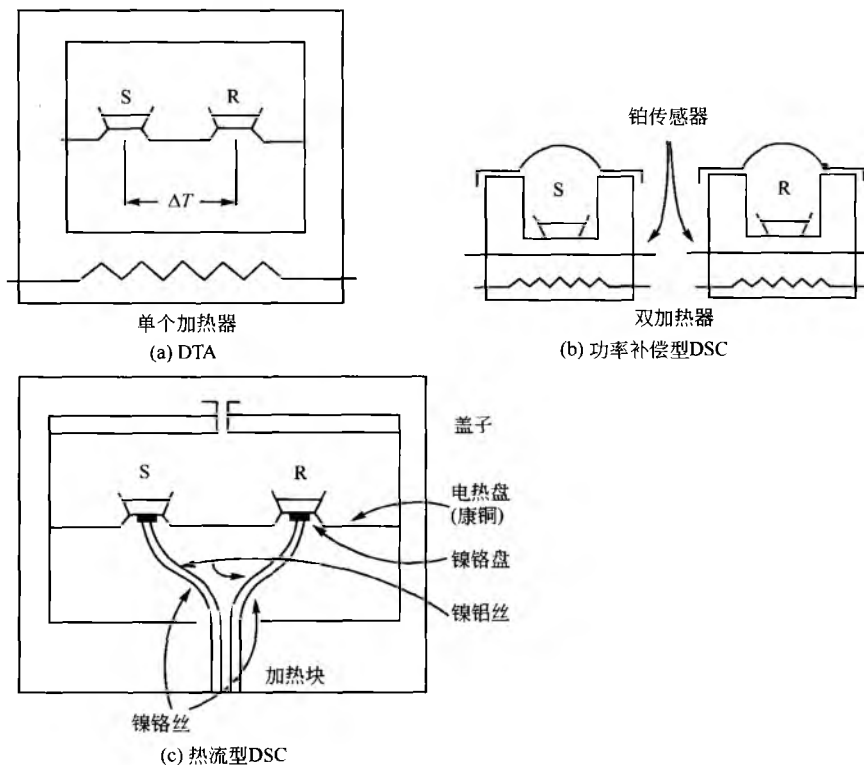


图 1 差示量热仪示意图

### 2. 调制或动态的差示扫描量热仪

传统的 DSC 测量样品的总热流。它包括热容和动力学两部分，如式 (5) 所示。

$$\text{总热流量} = \text{热容部分} + \text{动力学部分} \\ dq/dt = C_p dT/dt + f(T, t) \quad (5)$$

式中： $dq/dt$  为热流； $C_p$  为热容； $dT/dt$  为温度变化速率； $f(T, t)$  为随时间和温度变化的函数与动力学有关的热流。为了从这些试验中获取更多信息，人们对传统的 DSC 进行

两种技术的仪器都是由一个样品盘和参比盘所组成，提供关于样品的重要物理现象的定性定量信息，如熔点、纯度、玻璃化转变等。两种技术在灵敏度和记录的数据类型方面存在区别，DSC 为量热技术测量样品和参比之间对时间和温度的函数的能量差，而 DTA 为热技术记录样品和参比之间对时间和温度的函数的温度差（不是能量差）[图 1 (a)]<sup>[4,5]</sup>。

DSC 又分两种类型仪器——功率补偿型 DSC 和热流型 DSC。这两种仪器提供了相同的信息，但在测量方法上有根本的不同。对于功率补偿型 DSC，试样和参比物分别置于独立的加热炉中，通过功率补偿使试样和参比物的温度保持相同 [图 1 (b)]，记录补偿的能量随样品的温度而变化；热流型 DSC 测量的是温度变化时样品和参比之间的热流差，样品和参比的热流差异可通过镍铬/康铜热电偶测定 [图 1 (c)]<sup>[4,5]</sup>。

了改进。有两种方法：一是调制的差示扫描量热法 (modulated differential scanning calorimetry, MDSC)；一是动态的差示扫描量热法 (dynamic differential scanning calorimetry, DDSC)。与传统的 DSC 法不同，MDSC 和 DDSC 测量的是总热流量（即  $dq/dt$ ）和热流的热容组成（即  $C_p dT/dt$ ）。那么，由式 (5) 可以间接得出热流的动力学组成 [即  $f(T, t)$ ]。

MDSC 法由 TA 仪器公司 New Castle DE 所开发，是建立在传统的热流型 DSC 的炉体设计基础上的测量方法。温



度程序的区别在于: MDSC 是在传统的线性升温或降温上叠加一正弦调制波, 以产生连续变化的非线性样品温度。这可以看作一次进行两个试验。第一个试验与常规的 DSC 法一样, 以固定的线性速度加热样品, 得到总热量; 第二个试验是调制过程, 通过不断正弦地改变温度, 净的温度变化为 0, 可以得到热流量的热容量组分。通过调节三个变量, 即平均加热速度、调制周期和温度调制幅度, 可以将各种实验参数最优化。调制后的热流量信号进行傅里叶转换, 可以用来计算热流的平均值, 该值与运用传统 DSC 法获得的总热流相似。热容由热流振幅与调制的加热速度振幅之比决定。因此, 热容乘以平均加热速度, 就可以得到热容热流量。由总热流和热容量组分的差值, 可以得出动力学组分热流。

$$dq/dt = C_p(dT/dt + A_T\omega^* \cdot \cos\omega t) + f'(t, T) + A_K(\sin\omega t) \quad (6)$$

式中:  $(dT/dt + A_T\omega^* \cdot \cos\omega t)$  为测得的加热速度;  $f'(t, T)$  为未进行温度调制的动力学响应;  $A_K$  为温度调制的动力学响应的振幅。

DDSC 提供了不同于 MDSC 法的热容量和动力学组分信息。温度程序包含“等温-扫描”, 由传统的加热速度程序与多个等温或升降温程序组合, 后者包括加热和冷却温度程序。使用者根据实验的类型选择适当的方法<sup>[6]</sup>。从样品响应的动力学部分, 可以计算出复合热容量。复合热容量  $C_p^*$  是储能热容  $C_p'$  和损耗热容  $C_p''$  的向量和。除了在热量损耗明显的熔点附近, 复合热容与储能热容相同。储能热容与样品内部的分子运动有关, 它类似于动态机械测量的储能模量。损耗热容  $C_p''$  与物质的热耗性质有关。损耗热容随着温度的变化而呈现异相特征, 因为热流量会导致物质内部分子的结构变化。损耗正切角是损耗热量与储藏量之比, 比值是表明二个组分的相对重要性的一种量度指标<sup>[6]</sup>。

$$C_p^* = C_p' + C_p'' \quad (7)$$

式中:  $C_p^*$  为复合热容;  $C_p'$  为储能热容;  $C_p''$  为损耗热容。MDSC 或 DDSC 方法的优缺点如表 2 所示。

表 2 调制的 DSC 法的优缺点

优 点	缺 点
区分重叠转换	更复杂的热滞的效应
不降低灵敏度前提下提高分辨率	不如线性加热速度法精确
单一实验即可测定热容和热流量	众多实验参数
测定初始结晶	不推荐用于熔融转变
研究样品热历史	导致样品热历史复杂
能够区别可逆的与不可逆的转变	实验结果有的难以解释

### 3. 样品的制备和校正

分析 DSC 样品通常使用一种小的金属平底坩埚, 材质为惰性的或经过处理的金属, 如铝、铂、银、不锈钢等。坩埚有好多种类型, 如敞开式的、小孔的、有盖的或者密封的。参比坩埚材质及形状应与样品坩埚完全一致。典型

的 DSC 药物样品量为 3~5 mg, 样品应完全覆盖坩埚底部以保证良好的热传递。坩埚不可装满, 以避免从试样内部到传感器之间产生热滞后。对于物理性能稳定的大颗粒样品, 应将颗粒碾碎, 以减少不必要的热效应。如果要得到样品的定量热参数数据, 必须准确称量<sup>[5]</sup>。

DSC 通常是一种相对而非绝对的扫描测试技术。测试结果的价值依赖于在尽可能接近所需转变温度时对仪器的准确校正。任何热分析仪器的准确度高度依赖于高纯标准校正物的使用。当采用不同的仪器在不同的时间内测定时, 高纯标准品就格外重要。通常采用金属校正标准物(如铜、锡、铋和铅)易用而且容易获得。低熔点的金属(如汞和镓), 因为其毒性和操作问题, 使用频率较低。研究有机化合物时, 推荐采用相应的有机标样, 以最大限度地减少两者在热传导、热容及熔融热之间的差异<sup>[7~9]</sup>。由于方便实用, 金属标样为最常用的温度和热焓校正物质, 而当校正 300K 以下的温度, 有机标准品占有优势<sup>[10]</sup>。

DSC 结果依赖于仪器的校正、样品的制备及样品结构。为了保持高水平的准确度, 一些研究人员要求功率补偿型 DSC 需要在加热与冷却过程中保持相同的速率, 要进行严格的校准<sup>[11,12]</sup>。标准程序可能从美国材料测试协会(ASTM)获得。除此之外, 所有运用 DSC 获得的结果都与扫描速率有关, 报告中需注明扫描速率。转变峰形、峰面积、基线变化尤其是转变温度都与扫描速率有关。随着加热速率的提高, 转变将向更高的温度迁移。提高扫描速率将增加灵敏度, 而降低扫描速率则会提高分辨率。为获得真实的热力学转变温度, 需采用较低的扫描速率(1~5 K/min)。

### 4. DSC 的定义和应用

本节对可通过 DSC 测定的各种不同参数的定义进行了说明。可通过 DSC 测定的放热、吸热现象在表 1 中已有介绍。下面的部分将描述一些更加基本的热现象。举一些药物领域的例子来说明这些技术。这些例子有针对单一组分的(如药物或赋形剂), 也有针对混合物的(如药物和赋形剂的物理混合物、固体分散体、制粒或压制的制剂)。

### 5. 溶解

吸热过程, 首推溶解过程。化合物吸收了一定数量的热(溶解的摩尔热量)发生溶解。在 DSC 图谱中, 我们可以观察到吸热峰(图 2)。峰的宽度能说明熔化的结晶化合物的纯度, 纯度不高的、不太完美的小晶体先熔化, 然后再是更纯些的较大晶体<sup>[5]</sup>。溶解温度是三维有序晶体变成无序液态时的温度。它可以定义为外推的溶解起始温度  $T_i$  (即外推基线与转变曲线前沿处外推线的交叉点) 或者溶解峰值温度  $T_m$ 。其他说明溶解过程的温度是溶解起始的温度  $T_i$ , 以及外推的转变结束时的温度<sup>[5]</sup>。

溶解热焓  $\Delta H_f$  可从吸热转变峰面积得到。峰面积受基线选择影响。基线通常是连接转变从扫描基线偏离到溶解完成后又重新相交于基线的点。对于一些在溶解过程中热

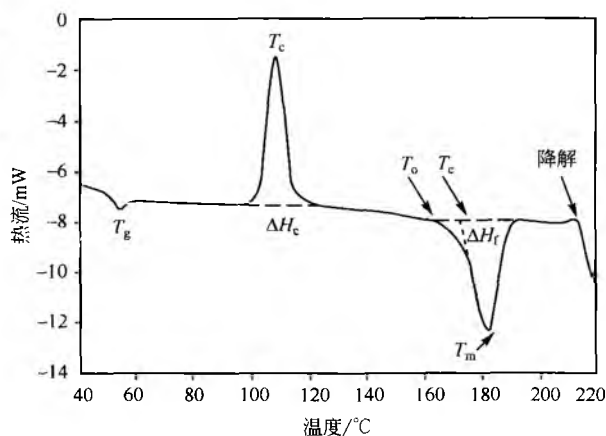


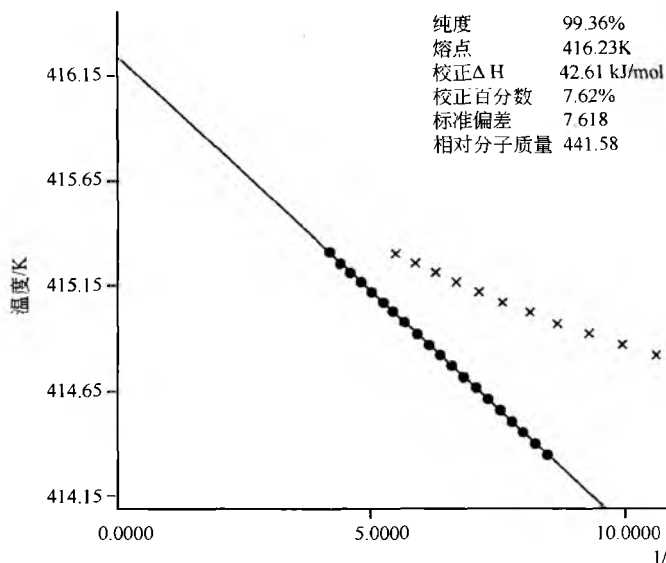
图2 蔗糖的DSC图谱显示玻璃化转变温度( $T_g$ ),再结晶放热温度( $T_c$ )和热焓( $\Delta H_c$ ),熔解起始点( $T_o$ ),外推的熔解起始点( $T_e$ ),熔融峰值温度( $T_m$ ),熔融热焓( $\Delta H_f$ ),和降解起始点。10 K/min升温,吸热峰向下

容发生很大变化的材料来讲,可运用其他的基线近似法,如S形基线<sup>[5]</sup>。

## 6. 纯度

通过DSC获得结晶物质的熔融热焓和熔融温度,运用van't Hoff方程,就可以计算出该物质的纯度。

$$T_{s(i)} = T_c - RT_c^2 X / (\Delta H_f F_i) \quad (8)$$



式中:  $T_{s(i)}$  表示已消除热滞后效应的样品平衡温度, K;  $T_c$  表示纯样品的熔点, K;  $R$  为摩尔气体常量,  $8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$ ;  $X$  是杂质的摩尔分数;  $\Delta H_f$  为纯样品的熔融热焓, J/mol;  $F$  为温度  $T_{s(i)}$  时已熔解的样品分数。熔解分数与已熔解部分( $A_i$ )与总的吸热熔解峰面积( $A_T$ )的比值相等(图3)。用  $T_{s(i)}$  对  $1/F_i$  作图得直线的斜率( $RT_c^2/\Delta H_f$ )  $X$ 。理论上的熔解温度可以通过外推至  $1/F_i=0$  而获得。由于热滞后、灵敏度、最低共熔点的难以检测以及固溶态的形成,该直线可能不易获得。除此之外,相当多的材料在DSC可检测到热流之前就已有熔化。因此,在所测的各个面积分数中引入校正常数  $K_{\text{corr}}$ ,以校正  $T_{s(i)}$  对  $1/F_i$  曲线的曲率[式(9)]。当  $F_i=1$  时,可以得到熔点下降( $T_c - T_{s(i)}$ )<sup>[5]</sup>。

$$1/F_i = (A_T + K_{\text{corr}}) / (A_i + K_{\text{corr}}) \quad (9)$$

由已校正的DSC绘制熔解曲线,必须采用较少的样品量(1~3mg)和缓慢的扫描速率(<5 K/min, 2 K/min更佳)。应该用几种不同的扫描速率来测定化合物的纯度,以保证化合物未经历任何固相转变,如多晶物种的转化或降解<sup>[5]</sup>。

DSC法获得纯度有三个优点:①测量速度快;②不必知道杂质类型;③需要样品量小。然而,对于盐类物质,过量的碱和酸被算作杂质。

曾经使用药品纯度的DSC算法来评价黄体酮和硫酸的质量,并且用来制定药品标准<sup>[13]</sup>。应用DSC还可测定(一)麻黄碱-2-萘磺酸盐中对映体的纯度<sup>[14]</sup>。

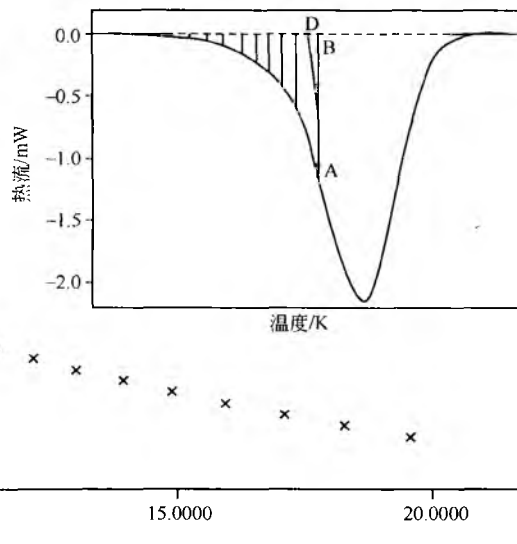


图3 用于药品纯度分析的DSC扫描图谱被分割成许多部分( $A_i$ ),总的热焓面积为 $A_T$ 。每个部分温度与 $1/F=1 (A_i/A_T)$ 的van't Hoff谱图,经校正后(直线),计算药品纯度

## 7. 结晶

当无定形物质从熔解态冷却或从玻璃化转变温度以上冷却时,就可能产生结晶。发生这种变化的温度为结晶温

度 $T_c$ 。结晶在DSC图谱中表现为放热转变,放热量即为结晶焓 $\Delta H_c$ (图2)。当分子、原子或离子组成三维固态时,释放的能量与晶格能有关。一些化合物能被结晶成不同分子排列的多晶体,这一点留待后面讨论。

## 8. 结晶度的定量测定

利用量热法可以检查处方工艺前后药品和辅料的结晶度。在某些情况下,在制药工艺过程中,结晶性化合物能转变成热力学不稳定的无定形态。无定形化合物是由无序排列的分子组成(见“玻璃化转变”一节)。这点对于处方的物理与化学稳定性有重要意义。利用 DSC 和其他热技术可以评价研磨对头孢克肟三水合物结晶度的影响。随着结晶度的降低,研磨样品的脱水温度也呈线性递减<sup>[15]</sup>。

无定形化合物结晶所释放的热量可用来定量晶型药品中无定形态的含量。结晶热焓与结晶含量对应,得校准曲线,可用于检查冻干的 MK-0591 药品是否为完全的无定形态或含有部分结晶化合物<sup>[16]</sup>。

## 9. 多晶型

多晶是具有相同的分子结构,但在单个晶胞中有不同分子排列的晶体化合物。多晶有相同的化学组分,却有独特的晶胞参数。因此,多晶存在着不同的熔点、密度、溶解度、化学与物理稳定性、溶解速率和生物利用度<sup>[17]</sup>。

多晶型既有互变性又有单变性。互变的多晶有其热力学转变温度,超过该温度时,一种晶型比较稳定;而低于该温度时,另一种晶型则较稳定。处理非稳态晶型,如溶解、重结晶及储藏条件,可能导致互变的多晶态的转变<sup>[5]</sup>。如果多晶化合物对在熔融温度之下没有转变温度,则不同的晶型都是单向变性。也就是说,只存在一种晶型在所有的热力学温度与压力下是稳定的。量热法能测定哪种晶型是更稳定的。DSC 可提供精确无误的熔点温度与熔融热焓。根据熔点温度与熔融热焓,就可以确定一对多晶态材料的相对热力学稳定性(应用熔融热定律<sup>[5]</sup>)。

DSC 与其他热技术联用,如升温 X 射线粉末衍射技术,已用于检查盐酸丁卡因六种无水多晶型之间的热力学关系<sup>[17]</sup>。二氟尼柳在聚乙二醇 4000 的固体分散体中的多晶型转化与聚合物含量之间关系的相图也已获得<sup>[18]</sup>。

## 10. 热容

精确的热容  $C_p$  可以通过在严格的实验条件下的 DSC 测量而获得,这包括用已知热容的标准物校正,如蓝宝石,缓慢精确的加热速率(0.5~2.0 K/min),相似的样品与参比盘的质量<sup>[19,20]</sup>。MDSC 或者 DDSC 也已经用于检测几种药物的热容<sup>[6,21]</sup>。

## 11. 玻璃化转变

使用不同的制药工艺,如冻干法或者粉碎技术,药物或辅料可能会形成无定形。无定形化合物缺乏广泛的有序分子排列和结构重复性。在制药工业领域,无定形的高能态备受关注,因为这可以提高药物的溶出速率和生物利用度。然而,无定形化合物具有热力学不稳定性,虽然与处于玻璃态温度有关,这些材料可能会长期保持动态稳定。无定形化合物具有特征的玻璃化转变温度,在 DSC 谱图中,表现为热容变化值增加(图 2)。

$$\Delta C_p = C_{p\text{liq}} - C_{p\text{glass}} \quad (10)$$

式中:  $C_{p\text{liq}}$  为液体的热容;  $C_{p\text{glass}}$  为玻璃态的热容。如图 4 所示,玻璃化转变温度可以定义为起始点,也可以定义为转变过程的中心点。由于在低于玻璃化转变温度时,分子的活动受限,在玻璃化转变过程有可能产生结构松弛。在 DSC 图谱,可观察到在玻璃化上叠加了一个吸热焓渐变峰(图 4),这可能导致在解图上的困难。调制 DSC 有时被用来分离热焓过冲与玻璃化转变<sup>[5]</sup>。

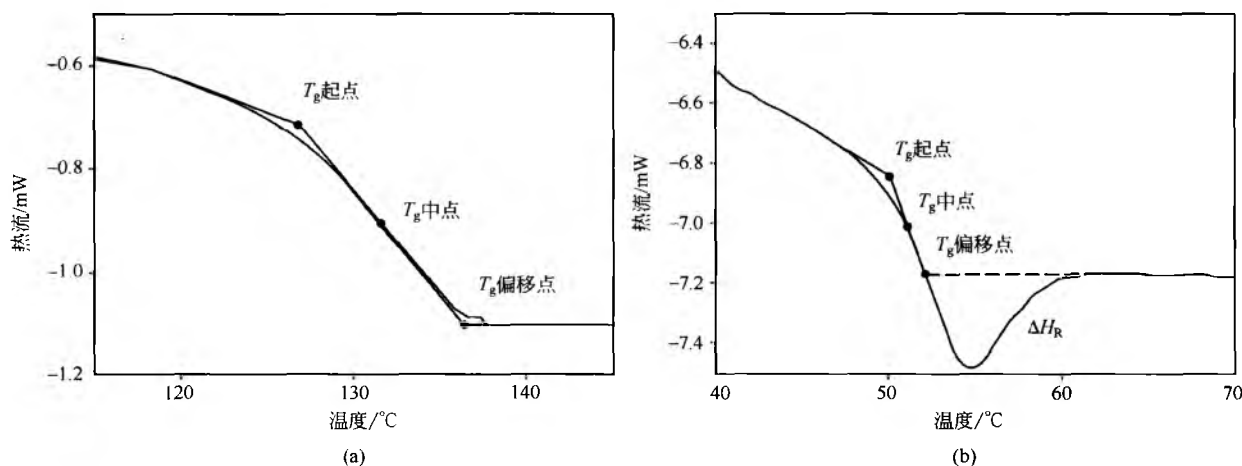


图 4 (a) 由 MK-0591 和 10% PVP 组成的共熔物玻璃化转变温度 DSC 曲线,显示了玻璃化转变的起点、中点、偏移点温度; (b) 蔗糖的玻璃化转变 DSC 曲线,显示热焓释放吸热峰  $\Delta H_R$ <sup>[5]</sup>

测定玻璃化转变对开发稳定的无定形药品很重要。一种白细胞介素生物合成抑制剂 MK-0591,在正常的储藏温

度下,如果避免受潮,由于其玻璃化转变温度达 125 °C,性能是稳定的<sup>[16]</sup>。在冻干系统中,较高的表观玻璃化转变

## L

温度  $T_g'$  和冻干处方的热容变化, 对确定药物处方的稳定性非常重要<sup>[22~24]</sup>。已经使用 MDSC 来选择最适宜的冻干条件, 以避免冻干层的塌陷<sup>[25,26]</sup>。

无定形多组分混合物的玻璃化转变温度能被用来确定各组分的相溶性。如果混合物相溶, 通常可得到一个单一的玻璃化转变温度, 可使用许多公式来推测相溶混合物的玻璃化转变温度, 如 Gordon-Taylor 方程 [式 (11)] 或 Fox-Flory 方程 [式 (12)]。

$$T_{g\text{mix}} = [\omega_1 T_{g1} + K\omega_2 T_{g2}](\tau\omega_1 + K\tau\omega_2);$$

$$K = \rho_1 T_{g1} / \rho_2 T_{g2} \quad (11)$$

$$1/T_{g\text{mix}} = 1/T_{g1} + 1/T_{g2} \quad (12)$$

式中:  $\rho_1$  和  $\rho_2$  分别为两种组分的密度;  $T_{g1}$  和  $T_{g2}$  分别为它们各自的玻璃化转变温度<sup>[27]</sup>。

## 12. 无定形物质中分子运动的温度依赖

影响任一无定形物质稳定性和性能的关键性因素是分子的运动速率 ( $\tau$ ) 与温度 ( $T$ ) 改变的比值 ( $d\tau/dT$ )。在超过玻璃化转变温度 ( $T_g$ ) 0~100K 内, 材料呈现脆性<sup>[27]</sup>。一些研究人员认为, 低于  $T_g$  的  $d\tau/dT$  (处于不平衡的玻璃化状态) 最适合描述无定形药物, 这是该类药品储藏和加工的正常状态<sup>[27,28]</sup>。从低于  $T_g$  的热熔松弛实验的结果中, 我们可以绘出简单的  $\tau$  对  $T$  的图表。通过常规 DSC 或者微量热仪均可完成这些测量工作<sup>[28,29]</sup>。在文献中, 有其他的量热法计算在  $T_g$  处的  $d\tau/dT$  值的报道<sup>[30]</sup>, 但是这些方法在药物上的适用性迄今为止没有明确说明<sup>[31]</sup>。

## 13. 降解、分解、稳定性检测以及药物与辅料的兼容性

通过 DSC 或者微量热法可测量药物或制剂的降解、分解、稳定性等。该技术的优势在于测量速度快、取样量少。有时, 结果的解释较为困难, 特别是当同时发生多个反应时。利用 Arrhenius 方程式, 可以测定分解动力学。可将样品保持在指定高温下一定时间, 再进行 DSC 分析。或者, 为了避免额外的分解, 先在 DSC 不同温度下保持恒温, 然后, 在极快的加热速度下扫描。每一个储藏条件下的反应速率常数可以通过测定转化峰面积对数 (如分解吸热等) 与时间的函数来计算。反应速率  $k$  的自然对数与  $1/T$  的关系, 在 Arrhenius 方程式中表示如下:

$$k = Ze^{-E_a/RT}; \ln k = \ln Z - E_a/RT \quad (13)$$

式中:  $Z$  为 Arrhenius 频率常数或前指数因子;  $E_a$  为该反应中 Arrhenius 活化能, J/mol;  $R$  为摩尔气体常量。假定活化能和指前因子为恒量, 与温度无关。

假设为一级动力学, 不同加热速率 ( $\varphi$ ) 下的最大峰值也可用于活化能量的计算。

$$E_a = -2.19T \frac{d \log \varphi}{d(1/T)} \quad (14)$$

以  $1/T$  对加热速率 ( $\varphi$ ) 的对数作图, 其斜率即为活化

能<sup>[31]</sup>。假设在转变期间只有一个反应发生, 每一个加热速率的恒量转化对应着峰最大值。该方法不能适用于在熔点分解或在反应温度下发生异构化反应, 以及有其他的同步反应的体系<sup>[32]</sup>。在不同的环境条件下, 测定化合物的降解动力学, 需对 DSC 进行一些改良。

在药物与赋形剂兼容性研究中, DSC 常用于快速筛选赋形剂。假设各组分之间没有相互作用, 则混合物的热性能是单个化合物的总和。该方法不考虑以下情况: ①热导性的影响 (热滞后效应); ②混合的影响, 它能降低各成分的纯度, 从而导致峰形变宽, 熔点降低; ③样品几何因素的影响, 将会导致峰形状和峰温的改变。另外, 药物在熔化的辅料中的溶解会导致熔融热焓的减少。后者可用于测定药物在不同熔化辅料中的溶解性<sup>[5,33]</sup>。

## 14. 水、溶剂、水合物之间的相互作用

水分对药物的物理和化学稳定性有非常明显的影响。水分存在于晶体晶格中 (水合), 或者存在于表面 (游离), 或者与药物紧密结合 (键合)。存在于药物中的水的类型可以通过低温 DSC 以及热重技术来测定, 例如硬脂酸镁水合物<sup>[31,35]</sup>, 游离水或者表面水结晶后, 再根据纯水的熔化热焓及游离水的熔化热焓就可计算出化合物中表面水的含量<sup>[36]</sup>。HPMC 凝胶的水的状态在有或者没有药物存在下, 可以通过该方法检测, 如盐酸普萘洛尔和双氯芬酸<sup>[37]</sup>。

## 微量热法

微量热法用来监控物理和化学反应中的热量变化, 这些物理和化学反应并不需要通过加热或冷却来引发。这包括溶解、沉淀、反应和结晶。在典型的微量热法实验中, 我们可以通过混合两个预先平衡且分隔的相, 如水蒸气和无定形药物、溶剂和结晶药物或者蛋白质和碳水化合物溶液, 在控制的状态下“触发”这些反应。微量热技术有时是指一些监控过程的方法, 如浸入量热法、溶液量热法、滴定量热法等<sup>[38]</sup>。差示扫描量热仪可在等温下操作, 但是, 如果要更准确可靠地等温测量, 需要特别设计的微量热计。

### 1. 热力学

我们可以运用溶液微量热技术求得固体化合物的溶解自由能, 这对药物研究中的溶解研究和确定多晶的相对热力学稳定性具有重要的意义<sup>[38]</sup>。关于溶解 Gibbs-Helmholtz 自由能的变化, 即  $\Delta G_{\text{sol}}$  为

$$\Delta G_{\text{sol}} = -RT \ln K_{\text{eq}} \quad (15)$$

式中:  $T$  表示温度, K;  $R$  为摩尔气体常量, 8.314 J/(mol · K);  $K_{\text{eq}}$  表示化合物从固态到溶液态转化的平衡常数。在低浓度情况下, 从化合物在溶液中的浓度或者溶解度, 与其在固态中的比率, 可测定平衡常数, 指定  $[C]_{\text{solid}} = 1$ 。

$$K_{\text{eq}} = [C]_{\text{soln}}/[C]_{\text{solid}} = [C]_{\text{soln}} \quad (16)$$

$\Delta H_{\text{sol}}$  为 1mol 化合物在溶剂中溶解所产生的热焓变

化。溶液微量热计可以直接测量溶解热焓。利用获得的焓值,根据浓度可以计算出自由能的变化。然后,根据 Gibbs-Helmholtz 方程式<sup>[2,3]</sup>,可以测定溶液中的熵的变化  $\Delta S_{\text{soln}}$ 。

根据 van't Hoff 方程,也可以计算出溶液中自由能的变化  $\Delta G_{\text{soln}}$ :

$$\delta(\Delta G_{\text{soln}}/T)/\delta T = -\Delta H/T^2 \quad (17)$$

运用微量热法,也可以更加准确地直接获得焓<sup>[39]</sup>。

## 2. 仪器装备

最简单的非扫描型量热计是等周绝热槽 (isoperibol) (图 5)。在这种量热计中,需要保持一个绝热反应器里的环

境恒定。一般使用镀银的杜瓦瓶,把能相互发生作用的组分(如溶剂和溶质)装在瓶内的容器里。液体要搅拌,用温度计或热电偶准确测量温度。在实验开始阶段,反应器需达到一个稳态,并记录基线温度和温度漂移。然后混合两种成分,引起相互反应,相对于基线的温度增加值被记录下来。通过监测一个标准反应(如盐酸中和反应),或者加热线圈提供的可控数量的电能,就可以校准系统。据此,就可以确定系统的热容,从观测到的温度变化,所有监控过程的焓变得以计算。分别由各个部件可以很容易地组装等周绝热槽量热计,不少这种类型的仪器已经有商品供应,并且价格适中。

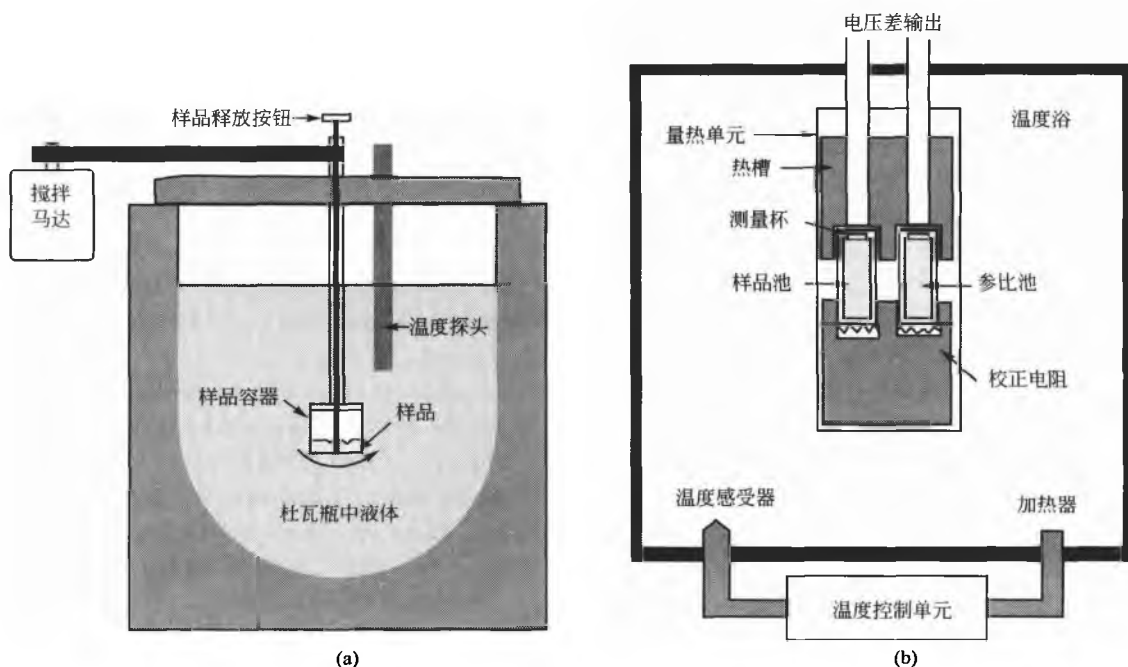


图 5 等周绝热槽 (a) 和热活性检测仪 (b) 的结构示意图

由于药物分析需要更高的精确性和灵敏度,越来越多的尖端微量热计被频繁地运用于药物研究系统。比如瑞典 Thermometrics 公司生产的热活度监控仪 (TAM)。使用一对样品池,一个作样品,一个作参考,以实现更高的信号稳定性,并且把一些干扰的热波动 [图 (5b)] 的影响降到最低。运用精密加热器和水夹套系统,把这些池保持在一个恒温环境中。这样,样品热流的轻微变化都能轻易地察觉到。TAM 是用电校准的,已商业化的样品配置允许药物以固体、液体和气体的形态,按不同比例进行混合。采用适当的附件,还可实现气体和液体的可控流动速度,并改变样品环境(如相对湿度)。比之于稍简单的仪器,这种量热计的一个主要应用优势在于,每次实验只需使用数十或者数百毫克用量。TAM 微量热计已被用于探测和监控结晶过程、有机和无机蒸气的吸附和解吸附作用、化学反应(药品降解和药品与赋形剂的相互作用)、无定形药物的分子运动、配基结合现象、微生物生长以及固体热容的确定。

## 3. 样品的制备和校正

测微量热计的操作方式通常比较相似,而与监控的能量变化的起源无关。样品需在设定的测量温度下预平衡数小时,然后引入量热计腔体内。稍后,用外部刺激引发有关过程,以测量被释放的或被消耗的能量。用保护套把反应与外部环境隔离,这种热屏蔽能把辐射热的吸收和发散降到最低(图 5)。测微量热计通常采用如前面所述的电加热直接供热的方式进行校正,样品制备需格外小心,以获得前后一致的样品并保持实验流程不变,因为对实验结果的解释很容易被实验假象弄得混淆不清。信号相反的热反应(放热和吸热)同时发生是很平常的,可能混淆数据的解释。在所有实验中,需要有一个适当的热参比物,因为测定的能量变化只不过是参考样品相对的能量变化。普通参比体系包括一个空的或者装有惰性材料的样品容器,这种惰性物质的热容和质量与待测样品类似。

# L

## 4. 微量热法的定义及其运用

近年来,人们发现微量热计在制药科学上具有各不相同的广泛用途。例如,测定药品降解的速度、估算蛋白质和受体的键合强度、监控微生物新陈代谢的过程。

Hollenbeck 等采用浸入量热法研究了微晶纤维素和水之间的相互作用<sup>[39]</sup>。运用微量热法,人们也探讨了羟丙基甲基纤维素和带水消胆胺之间的相互影响<sup>[40,41]</sup>。除此之外,用微量热法<sup>[42]</sup>还检测了水从茶碱-水合物的解吸附作用。Attwood 等<sup>[43]</sup>用量热法研究了溶液中表面活性剂和表面活性药品的特性。同时,滴定微量热法被用来阐述几种药物聚合物-表面活性剂系统中特殊相互作用的性质<sup>[44,45]</sup>。微量热法的一个更加与众不同的用途是研究发生在压片过程中的能量变化<sup>[46,47]</sup>。压缩量热计是一种定制的研究仪器,对药理学科学家来说有许多潜在的用途。

微量热法已经被证明是一种特别有用的工具,可用来探测各种制药材料中的不同水平的无序状态<sup>[48]</sup>。Pikal 等用溶液量热法测量了大量抗生素样品的结晶度的区别<sup>[49]</sup>。Gao 和 Rytting 证明了这种方法在更多物质测量中的有效性<sup>[50]</sup>。其他研究人员已经用更高的蒸气压,引发量热计中无序物质的结晶化,并且用测定的能量输出量,直接量化无规律样品的结晶度水平<sup>[51]</sup>。

用微量热法进行的稳定性研究在文献中有广泛的记载<sup>[38,52~54]</sup>。一些研究者已经监控过超过数天或数周的放热降解反应,并且计算出药物及其制剂在有效期内降解的程度与速度。还有一些已经使用微量热法,监控无定形药物的松弛现象,并且从这些数据中计算出松弛的时间常数,用以预测有效期<sup>[29]</sup>。微量热法还可用于药品潜在反应性赋形剂的配方稳定性和处方前筛选<sup>[55]</sup>。

## 5. 需要注意的有关法规

量热法由于其非特定的属性和相对较慢的速度,在日常的质量控制中尚未频繁使用。然而,热量测定实验的数据常常用于新药许可证和专利的申请。为确保所有热量测定数据的完整性,必须具备正规的实验室运作程序、标准的操作规范、适当的校正方法和规范的仪器维修。在美国药典中,有关运用 DSC 测量转换温度和样品纯度的记载,并且,ASTM (100 Barr Harbor Dr., West Conshohocken, Pennsylvania 19428) 也提供了 DSC 分析法的标准程序。

## 参考文献

- Giron, D. Thermal Analysis, Microcalorimetry and Combined Techniques for the Study of Pharmaceuticals. *J. Therm. Anal. Calorim.* 1999, 56, 1285—1304.
- Yu, L. Inferring Thermodynamic Stability Relationship of Polymorphs from Melting Data. *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 966—974.
- Wunderlich, B. The Basis of Thermal Analysis. *Thermal Characterization of Polymeric Materials*, 2nd Ed.; Turi, E., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, 1997; 206—484.
- Skoog, D. A.; Leary, J. J. *Principles of Instrumental Analysis* 4th Ed.; Saunders College Publishing: New York, 1992; 568—578.
- Clas, S.-D.; Dalton, C. R.; Hancock, B. C. Differential Scanning Calorimetry: Applications in Drug Development. *Pharm. Sci. Technol. Today* 1999, 2, 311—320.
- Varma-Nair, M.; Wunderlich, B. Nonisothermal Heat Capacities and Chemical Reactions Using a Modulated Differential Scanning Calorimeter. *J. Therm. Anal.* 1996, 46, 879—892.
- Barker, A. D. A New Approach to Differential Scanning Calorimetry in Wax/Polymer Blending. *J. Therm. Anal.* 1993, 40, 799—805.
- Price, D. M. Temperature Calibration of Differential Scanning Calorimeters. *J. Therm. Anal.* 1995, 45, 1285—1296.
- Tan, Z. C.; Sabbah, R. Reference Materials for Energy and Temperature Calibrations of DTA and DSC instrumentation in the range 100—300 K. *J. Therm. Anal.* 1994, 41, 1577—1592.
- Skoglund, P.; Fransson, A. Accurate Temperature Calibration of Differential Scanning Calorimeters. *Thermochim. Acta.* 1996, 276, 27—39.
- Sarge, S. M.; Hemminger, W.; Gmelin, E. Metrologically Based Procedures for the Temperature, Heat and Heat Flow Rate Calibration of DSC. *J. Therm. Anal.* 1997, 49, 1125—1134.
- Gehenot, A.; Rao, R. C.; Maire, G. Value of Thermal Analysis in the Critical Evaluation of Classical Methods of Melting Point Determination. *Int. J. Pharm.* 1988, 45, 13—17.
- Lvova, M. S.; Kozlov, E. I.; Wishnevezkaya, I. A. Thermal Analysis in the Quality Control and Standardization of Some Drugs. *J. Therm. Anal.* 1993, 40, 405—411.
- Duddu, S. P.; Grant, D. J. W. The Use of Thermal Analysis in the Assessment of Crystal Disruption. *Thermochim. Acta.* 1995, 248, 131—145.
- Kitamura, S.; Miyamae, A.; Koda, S.; Morimoto, Y. Effect of Grinding on the Solid-State Stability of Cefixime Trihydrate. *Int. J. Pharm.* 1989, 56, 125—134.
- Clas, S.-D.; Cotton, M.; Moran, E.; Spagnoli, S.; Zografi, G.; Vadas, E. B. Assessment of the Physical Stability of Lyophilized MK-0591 by Differential Scanning Calorimetry. *Thermochim. Acta* 1996, 288, 83—96.
- Giron, D.; Draghi, M.; Goldbronn, C.; Pfeffer, S.

- Piechon, P. Study of the Polymorphic Behavior of Some Local Anesthetic Drugs. *J. Therm. Anal.* 1997, 49, 913–927.
18. Martinez-Oharriz, M. C.; Martin, C.; Goni, M. M.; Rodri-guez-Espinosa, C.; Tros-Illarduya, M. C.; Zornoza, A. Influence of Polyethylene Glycol 4000 on the Poly-morphic Forms of Diflunisal. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1999, 8, 127–132.
  19. Nishimoto, Y.; Ichimura, Y.; Kinoshita, R.; Teramo-to, Y.; Yoshida, H. Heat Capacity Measurements by Heat-Flux Type DSC on Cooling and Heating Cycles at Low Scan Rates. *Thermochim. Acta.* 1991, 179, 117–124.
  20. Richardson, M. J. Quantitative Differential Scanning Calorimetry from Heat Capacities to Free Energies. *Anal. Proc.* 1988, 25, 16–18.
  21. Hill, V. L.; Craig, D. Q. M.; Feely, L. C. Characterisa-tion of Spray-Dried Lactose Using Modulated Differential Scanning Calorimetry. *Int. J. Pharm.* 1998, 161, 95–107.
  22. Martini, A.; Kume, S.; Crivellente, M.; Artico, R. Use of Subambient Differential Scanning Calorimetry to Monitor the Frozen-State Behaviour of Blends of Excipi-ents for Freeze-Drying. *PDA. J. Pharm. Sci. Technol.* 1997, 51, 62–67.
  23. Her, L.-M.; Nail, S. L. Measurement of Glass Transi-tion Temperatures of Freeze-Concentrated Solutes by Differential Scanning Calorimetry. *Pharm. Res.* 1994, 11, 54–59.
  24. Miller, D. P.; de Pablo, J. J.; Corti, H. Thermophysical Properties of Trehalose and its Concentrated Aqueous Solutions. *Pharm. Res.* 1997, 14, 578–590.
  25. van Winden, E. C. A.; Talsma, H.; Crommelin, D. J. A. Thermal Analysis of Freeze-Dried Liposome-Carbohydrate Mixtures with Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 231–237.
  26. Shalaev, E. Y.; Franks, F. Structural Glass Transitions and Thermophysical Processes in Amorphous Carbohy-drates and Their Supersaturated Solutions. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1995, 91, 1511–1517.
  27. Hancock, B. C.; Zografi, G. Characteristics and Signifi-cance of the Amorphous State in Pharmaceutical Sys-tems. *J. Pharm. Sci.* 1997, 86, 1–12.
  28. Hancock, B. C.; Shamblin, S. L.; Zografi, G. Molecular Mobility of Amorphous Pharmaceutical Solids Below Their Glass Transition Temperatures. *Pharm. Res.* 1995, 12 (6), 799–806.
  29. Shamblin, S. L.; Tang, X.; Chang, L.; Hancock, B. C.; Pikal, M. J. Characterization of the Time Scales of Mo-lecular Motion in Pharmaceutically Important Glasses. *J. Phys. Chem. B* 1999, 103, 4113–4121.
  30. Hatley, R. H. M. Glass Fragility and the Stability of Pharmaceutical Preparations: Excipient Selection. *Pharm. Dev. Technol.* 1997, 2 (7), 257–264.
  31. Hancock, B. C.; Dalton, C. R.; Pikal, M. J.; Shamblin, S. L. A Pragmatic Test of a Simple Calorimetric Method for Determining the Fragility of Some Amorphous Phar-maceutical Materials. *Pharm. Res.* 1998, 15 (5), 762–767.
  32. Wesolowski, M.; Konarski, T. General Remarks on the Thermal Decomposition of Some Drugs. *J. Therm. Anal.* 1995, 43, 279–289.
  33. Schwarz, E.; Pfeffer, S. Use of Subambient DSC for Liquid and Semisolid Dosage Form: Pharmaceutical Product Development and Quality Control. *J. Therm. Anal.* 1997, 48, 557–567.
  34. Rajala, R.; Laine, W. E. The Effect of Moisture on the Structure of Magnesium Stearate. *Thermochim. Ac-ta.* 1995, 248, 177–188.
  35. Han, J.; Suryanarayanan, R. Applications of Pressure DSC in the Study of Pharmaceutical Hydrates. I. Car-bamazepine Dihydrate. *Int. J. Pharm.* 1997, 157, 209–218.
  36. Danjo, K.; Nishio, F.; Zhou, B. D.; Otsuka, A. Inter-actions Between Water and Pharmaceutical Polymers De-termined by Water-Vapor Sorption Measurements and Differential Scanning Calorimetry. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 1958–1960.
  37. McCrystal, C. B.; Ford, J. L.; Rajabi-Siahboomi, A. R. Water Distribution Within Cellulose Ethers Using Differ-ential Scanning Calorimetry. 1. Effect of Polymer Mo-lecular Weight and Drug Addition. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88, 792–796.
  38. Phipps, M. A.; Mackin, L. A. Application of Isothermal Microcalorimetry in Solid State Drug Development. *Pharm. Sci. Technol. Today* 2000, 3, 9–17.
  39. Hollenbeck, R. G.; Peck, G. E.; Kildsig, D. O. Appli-cation of Immersional Calorimetry to Investigation of Sol-id-Liquid Interactions: Microcrystalline Cellulose-Water System. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67, 1599–1606.
  40. Joshi, H. N.; Wilson, T. D. Calorimetric Evaluation of Hydration of Cholestyramine. *J. Pharm. Pharmacol.* 1995, 47, 188–192.
  41. Joshi, N. N.; Wilson, T. D. Calorimetric Studies of Dis-solution of Hydroxypropyl Methylcellulose E5 (HPMC E5) in Water. *J. Pharm. Sci.* 1993, 82 (10), 1033–1038.

L

42. Duddu, S. P.; Das, N. G.; Kelly, T. P.; Sokoloski, T. D. Microcalorimetric Investigation of Phase Transitions; 1. Is Water Desorption from Theophylline Monohydrate a Single-Step Process? *Int. J. Pharm.* 1995, 114, 247—256.
43. Attwood, D.; Boitard, E.; Dubes, J. P.; Tachoire, H. Calorimetric Study of the Influence of Electrolyte on the Micellization of Phenothiazine Drugs in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B* 1997, 101, 9586—9592.
44. Blandamer, M. J.; Briggs, B.; Cullis, P. M.; Irlam, K. D.; Engberts, J. B. F. N.; Kevelam, J. Titration Microcalorimetry of Adsorption Processes in Aqueous Systems; Interaction of Sodium Dodecylsulfate and Sodium Decylsulfate With Poly ( *N*-vinylpyrrolidone ) . *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1998, 94 ( 2 ), 259—266.
45. Bloor, D. M.; Holzwarth, J. F.; Wyn-Jones, E. Polymer/Surfactant Interactions; The use of isothermal titration calorimetry and EMF measurements in the Sodium Dodecyl Sulphate/Poly ( *N*-vinylpyrrolidone ) system. *Langmuir* 1995, 11, 2312—2313.
46. Rowlings, C. E.; Wurster, D. E.; Ramsey, P. J. Calorimetric Analysis of Powder Compression; II. The Relationship Between Energy Terms Measured with a Compression Calorimeter and Tableting Behavior. *Int. J. Pharm.* 1995, 116, 191—200.
47. Wurster, D. E.; Rowlings, C. E.; Creekmore, J. R. Calorimetric Analysis of Powder Compression; I. Design and Development of a Compression Calorimeter. *Int. J. Pharm.* 1995, 116, 179—189.
48. Salvetti, G.; Tognoni, E.; Tombari, E.; Johari, G. P. Excess Energy of Polymorphic States or Glass Over the Crystal State by Heat of Solution Measurement. *Thermochim. Acta.* 1996, 285, 243—252.
49. Pikal, M.; Lukes, A.; Lang, J.; Gaines, K. Quantitative Crystallinity Determinations for Beta-Lactam Antibiotics by Solution Calorimetry; Correlations with Stability. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67, 767—773.
50. Gao, D.; Rytting, J. H. Use of Solution Calorimetry to Determine the Extent of Crystallinity of Drugs and Excipients. *Int. J. Pharm.* 1997, 151, 183—192.
51. Briggner, L. E.; Buckton, G.; Bystrom, K.; Darcy, P. The Use of Isothermal Microcalorimetry in the Study of Changes in Crystallinity During the Processing of Powders. *Int. J. Pharm.* 1994, 105, 125—135.
52. Beezer, A. E.; Gaisford, S.; Hills, A. K.; Willson, R. J.; Mitchell, J. C. Pharmaceutical Microcalorimetry; Applications to Long-Term Stability Studies. *Int. J. Pharm.* 1999, 179 ( 2 ), 159—165.
53. Lehto, V. P.; Salonen, J.; Laine, E. Real Time Detection of Photoreactivity in Pharmaceutical Solids and Solutions with Isothermal Microcalorimetry. *Pharm. Res.* 1999, 16 ( 3 ), 368—373.
54. Pikal, M. J.; Dellerman, K. M. Stability Testing of Pharmaceuticals by High-Sensitivity Isothermal Calorimetry At 25 C; Cephalosporins in the Solid and Aqueous Solution States. *Int. J. Pharm.* 1989, 50, 233—252.
55. Heidemann, D. R.; Jarosz, P. J. Preformulation Studies Involving Moisture Uptake in Solid Dosage Forms. *Pharm. Res.* 1991, 8, 292—297.

## 参考书目

- Ford, J. L.; Timmins, P. *Pharmaceutical Thermal Analysis: Techniques and Applications*; Halsted Press: New York, NY, 1989.
- McCauley, J. A.; Brittain, H. G. *Thermal Methods of Analysis. Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*; Brittain, H. G., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, NY, 1995; 223—251.
- Turi, E. A., Ed. *Thermal Characterization of Polymeric Materials*, 2nd Ed.; Academic Press: San Diego, CA, 1997.

(朱 娟 陈桂良 译)





# 临床数据管理系统

**Samuel Givens**

*Hoffmann-LaRoche, Nutley, New Jersey, U. S. A.*

**Debra Barnes**

*Hoffmann-LaRoche, Palo Alto, California, U. S. A.*

**Victoria Imber**

*CastleRock Technologies, Inc., Sausalito, California, U. S. A.*

**Barbara Perry**

*Hoffmann-LaRoche, Welwyn, United Kingdom*

## 简介

### 1. 概况

本章简要介绍了临床数据管理系统及其支持的操作。数据管理系统很大程度上依赖运行该系统的机构规模和复

杂程度。系统小至一套的 SAS 数据，大至集成的、分布式的关系型数据库软件。整个数据管理程序会使用各种各样的技术解决方案。

这里介绍的内容是基于大型国际制药公司的程序和技术的使用经验。其中很多概念被小型制药公司和合同研究组织使用，但规模较小。

数据管理核心程序见图 1、图 2 的研究生命周期图。

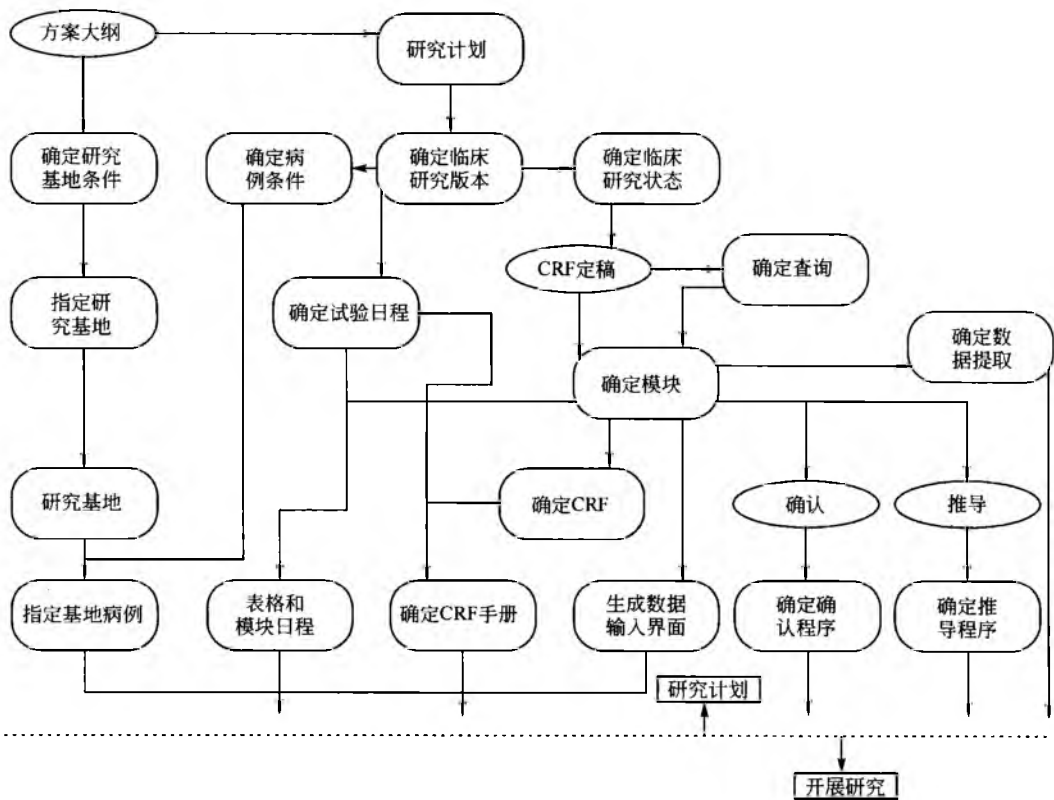


图 1 研究计划

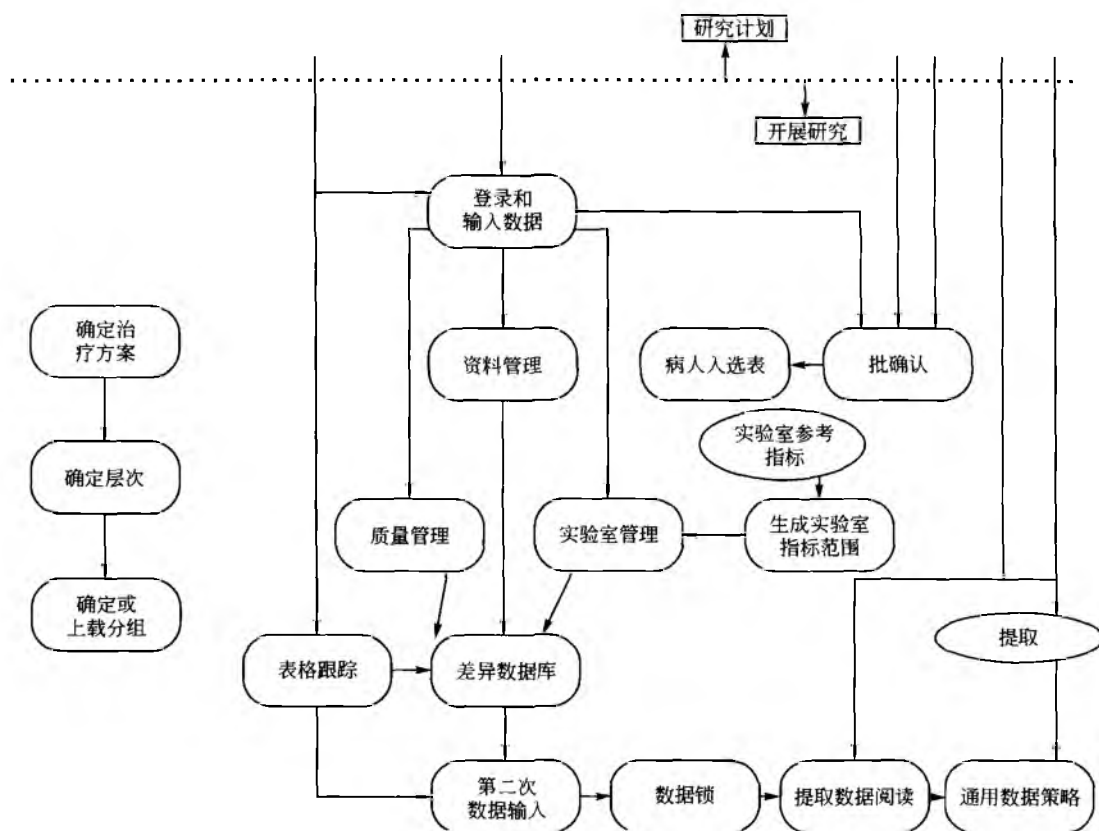


图2 研究开展

## 2. 重构

制药企业的压力在于以较少的费用快速地将高质量的产品推向市场。想在三个目标“速度、成本、质量”中实现利益平衡，其最终的结果是“重构”。投资于开发和使用可靠的数据库和流程数据管理工具以及程序，将会给你的努力带来成功。

## 3. 技术是如何推动数据管理的转变的

互联网和基于网络的应用程序的引入和扩大对临床试验的开展具有意义深远的影响。互联网给我们提供了很容易与合同研究组织和研究者交流的能力，并且不会影响公司的安全。数据库很容易放置在安全的网站上，供合作者审查和更新。互联网技术的引入和使用使我们能够充分地使用远程数据登录。

# 研究计划

## 1. 标准化

为了避免浪费，研究和设置的很多部分都已标准化，可以重复使用（图1）。例如，通过研究确定的病例报告表（CRF），研究限定（查询和响应）的相应部分，确认核查、

报告、数据结构都可以重复使用，特别是在一个项目中。这种标准化允许更有效地使用资源和系统，对于CRF表的设计、研究限定、确认核查、分析、汇总、衡量标准和培训也都有益处。在整个项目中满足Pooled分析立法的报告要求，也必须是拥有标准化的数据收集和处理，如安全更新、完整报告、概要等。

## 2. 方案的确定

方案必须包含明确的研究目的声明（主要的和次要的）和使用的分析方法。各个部分由合适的成员编写，并由临床方案作者汇总。方案完成后，CRF也就设计完成了。在数据管理系统中，CRF是用来收集研究数据、指导研究限定的主要文件。

## 3. 内部完成还是转交合同研究组织

项目组一旦完成方案大纲后，应对内部资源进行评价。必须考虑项目中优先要完成的目标和研究的类型。内部数据管理的优点包括：

- 所有项目数据都存在于数据库中；
- 完全控制研究计划；
- 工具的重复使用已经实现；
- 及时获取数据；
- 控制研究成本。

如果内部资源有限,并决定采用外部数据管理时,计划程序一开始就要创建一个具体的工作范围并提出建议要求。投标应该在几家合同研究组织中产生。

选择合同研究组织应该考虑以下几点:

- 数据管理经验;
- 计算机系统的兼容性;
- 合格数据转移的技术支持;
- SOP 和规定符合 GCP 标准;
- 人际关系;
- 价格。

以往申办者对 CRO 的经验、CRO 递送的记录和行业中 CRO 的声誉都比价格重要。

选定 CRO 后,合同应该包括详细的工作要求范围限定,并明确什么时候数据完成、什么时候开始分析。从 CRO 至申办者的数据转移测试应该尽早进行,以确定数据格式和传输中的任何问题。为了确保适当的分期付款,研究过程中的阶段性进展和数据传递必须及时记录,同时要保证经常的信息交流。为了实现平稳数据库关闭和数据传输,必须及早地发现技术和程序问题,并加以解决。数据传输过程常常会出现意想不到的问题。

申办者必须花时间去彻底了解 CRO 组织、工作流程和对工程的要求。相反,CRO 必须了解申办者项目管理队伍的组织结构和在整个临床研究过程中期望 CRO 要完成的工作。相互理解的确立需要花费时间和努力,但对项目成功至关重要。

项目组需要报告以跟踪研究进程,包括患者入选数据、差异数、突出的 CRF 记录页和终止病例(包括失访)。如果 CRO 已经有合适的跟踪系统,应对报告进行评估和采纳。

研究完成后,应对 CRO 的表现进行书面评价,这有助于给将来的项目计划和外包提供参考。

将 CRO 加工的数据转移给申办者时有几种选择。大多数情况下最终数据会进入 CRO 的数据库产生带有相应数据的最终研究报告。然而,很可能随着互联网的发展和多中心研究的出现,申办者通常愿意 CRO 直接把数据输入申办者的数据库。

#### 4. CRF 的形成

CRF 的设计可以与方案设计同时进行,也可以在方案以后进行。设计良好的数据收集表对临床试验目标的实现是十分重要的。表格的内容、格式和版面设计都应该仔细考虑,所有这些因素将对收集、处理和报告的数据的总体质量和精确度都起着作用。

许多学科将参与到 CRF 表的设计过程。其核心组员通常由统计、数据管理、表格设计、医生和临床监察小组的代表组成,还有其他的专家和顾问。小组的主要目的是优化和平衡以下对 CRF 的要求:

- 帮助研究机构正确填写表格;
- 允许快速和正确的数据输入;

• 确保数据能被分析并且在统计和临床报告中体现患者的经历;

• 有助于项目中的数据汇总,供数据安全更新和形成安全有效的报告;

• 项目内部或各领域,如医药经济学、临床药理学的协调一致,允许工具的再使用。

表格应该只用来收集报告必须的数据,避免收集不必要的和多余的数据。

跨多学科使用的标准化的 CRF 表格,能显著地节省费用,特别在临床研究必须的设计、处理、报告和培训资源方面。表格可以进一步被分解成模块(如体格检查、生命信号、人口统计学)或查询组。这些模块的使用使得组建表格或附页时灵活性更大,同时保留了查询组的标准用途。表格库可通过中央收集和维护,包括“全局性”表格(整个方案中通用,如不良事件、人口统计学)、项目或治疗标准表格(整个项目通用的)和研究用特殊表格。

有很多应用软件和系统可以用来设计和生成 CRF 表格,包括从文字处理和桌面出版系统软件包到客户定制系统,客户定制系统容易维护和运行模块/表格库以及执行标准。CRF 可以是电子版本而不是书面版本,如远程数据输入系统。

#### 5. 随机化

随机化是一种把患者随机分配入治疗组的过程。它可用来减少研究者和其他研究人员对结果产生偏见的可能性,他们可能有意识地或无意识地在研究中偏向于一种治疗。随机化也考虑当个别患者必须破盲时仍维持研究的盲态。大多数试验中随机化数据将保持盲态,直到数据清理完成并做出排除决定后,以免影响研究结果。试验最后要求确认盲态的完整性,所有的破盲和揭盲后数据改变都应加以记录或存档。

统计学专家在指定利用合适的参数产生随机数表时起着重要作用。随机化包括治疗、中心、块大小、研究设计、盲态要求和分层因素。通过使用分层或分组标准,两组间患者的差异会被最小化。

研究用药的包装标签将使用随机编码。产生治疗用药瓶签的系统可以与产生随机表的系数不一致。

#### 6. 研究限定

研究限定是用来确定系统内部数据储存字段、接受数据的标准、提取格式和文档结构等系统特征。这些特征可能包括数据库变量名、数据类型(数字型、字符型、日期/时间型)、查询名和标识、短参考名(如 SASa 变量名)、格式(如 ddmmyy)、字段长、接受响应值(如男性/女性)、编码格式(如 1 对,2 错)和确认信息(如依靠特殊的辞典生效)。

数据输入界面设计也是研究限定的一部分。数据输入容易(或者困难)必须与数据提取文件结构的使用相平衡,两者都由研究限定过程决定。因此,良好的数据库设

计要求数据管理和统计分析的紧密合作和谅解,确保整个数据处理、管理、分析和报告生命周期的质量和效率。

许多数据库系统具有查询目录或者其他全局性图书馆,供数据限定对象的储存和检索。使用这些对象就像“堆积木”,标准模块建好后可以在许多研究中通用。

这些标准化节省了相当多的资源,不仅在研究计划过程中,而且在培训数据输入人员、编码确认、生成检查报告和分析/报告方面都有效果。采用适当的维护和限定。这些标准的连续使用也能考虑到持续不断地提高效率,以及依照经验进行不断改进。

关于研究限定过程,多数程序要求定义事件的进度表,指示系统什么时候为了随访而需要某种表格,并将随访日期与表格联系起来。

## 7. 数据质量要求

数据质量计划是一种帮助执行数据质量的工具。方案定稿后应尽快制订计划。数据质量由所有职能部门共承担责任。例如,监视员通过原始资料核对确保质量,临床医生核查各个患者的资料并研究“离群值”。

新数据和数据修改通过批确认程序晚间在临床数据库中处理。批确认程序将识别前一次运行确认后出现的新差异。由于数据或相关的标准的改变,以前形成的差异不再有效,程序会长久解决这些问题。如果立即需要数据确认,批确认也会根据需要运行。

在研究小组的帮助下,数据管理通常准备确认程序文件来识别指定的必须被确认的变量。编辑核对可以定义为数据输入中数据结构和执行的一部分。程序核查为自定义核查,在批确认中脱机执行。

这些程序核查包括:

- 供所有的标准 CRF 页的标准核查;
- 每个项目内部的特殊核查;
- CRF 表指定页的特殊核查。

完整的确认核查应该基于测试数据,以确保书写正确。如果数据被这些程序接受和确认,评估输出值、适当的增加或删除编辑标记是很重要的。

## 开展研究

### 1. 数据收集

数据收集技术提供了将数据从研究者、CRO 或者实验室传输回申办者的许多选择。图像技术可以采集和有效地储存所有的 CRF 表,供数据跟踪和电子提交用。目前和不久的将来,图像技术将允许我们很容易地存储已签名的 CRF 表格电子拷贝,就像将与研究相关的所有文件存档一样容易。图像可以用光学字符识别和条型编码技术来阅读。这些技术一旦成熟将大大减少索引和将 CRF 的数据输入数据管理系统的人工管理。图像技术正用于通过适当的研究工作流程发送文件(图 2)。

远程数据获得已经有了很大进展,可以通过电子 CRF 或掌上电子设备进行数据收集。这些数据随后被传输回申办者公司,并且成批载入申办者的临床试验数据库。当前的远程数据输入技术允许方便地限定和发送电子 CRF 表至研究基地,在将数据传输给申办者前可以进行在线的清理,再进行质量核查后传回研究基地。这些反复的程序允许临床数据的收集和快速清理。数据也可以从 CRO、研究基地或者实验室通过电子数据传输。实验室数据多数通过这样传输(因为其数据量大),数据然后被批载入申办者的临床试验数据库。研究基地常通过传真传输。传真件可以打印出然后输入数据,或者直接用传真服务器或者通过扫描仪生成表格/文件的电子影像。图像可以储存,或者通过光学字符识别输入数据、手工输入数据或者两者联合使用。

许多研究仍然采用传统的书面方法。CRF 表 and 文件通过邮局(常常过一晚)被发送至申办者,在那里进行数据输入和归档。现在的技术允许多中心管理,对汇总的数据有能力进行临时分析和综合性安全概括。试验规模和复杂性决定了采用哪项技术。多数大型制药公司采用临床试验技术档案。

### 2. 数据输入

基于书面的数据流中,申办者接受的 CRF 表可以登录系统或者识别。使用文件号作为识别页,供进一步在数据库中跟踪。这个文件识别码可以扫描表格印刷的条形码、使用文件号生成器创造或者手工输入。

一旦表格被系统识别和接受,数据输入操作员可以开始输入数据库。在数据定义程序中,将界面设计得输入既快又准。输入中使用一些确认或者差异核查。例如,如果数据输入人员试图违背系统特殊数据字段的标准(如把字符信息输入数字字段),系统会提示出错,提醒输入人员接受和改正数据。如果输入正确地反映了 CRF 表,数值可以被接受,但注上标记,供以后的跟踪。

很多系统允许独立进行第二数据输入,来确保 CRF 上记录的数据和输入数据库的数据相匹配。第二关(双钥匙)应该是和第一关不同的数据输入者来输入。万一第一次输入和第二次输入不匹配,系统会提示数据输入者,该接受哪一方的输入。系统会保留一个审核索引,在第二次输入过程中的文件变化会形成报告。推荐使用数据输入协定来协调数据处理。这些协定应该包括指南和处理表格上出现的、预期的(和未预期的)问题的规则。一些例子包括处理缺失数据、模糊的文本和数据、研究者意见、公认的缩写词等。

不是所有的 CRF 表和书面的数据都是在申办者处接收。例如,数据可以在研究者位置远程输入,或者通过仪器产生输出文件,然后通过网页(互联网)、其他连接线路或者磁盘传至申办者处,可以替代传统数据输入的方法,还包括使用光学文字识别技术。用来输入数据库的扫描技术要求 CRF 表格的设计有特殊的考虑,如表格的密度、增加使用编码字段和表格的可辨认性。

### 3. 差异管理

除了研究限定产生的差异外，当批确认发现数据矛盾（单变和多变的差异）时差异也会发生。用眼睛审核也可以发现差异。例如：监视清单、原始数据核对回顾。差异也可以由负责数据分析的人产生，如统计学家、药理学经济学家、临床药理学家。使用数据库时所有差异和数据字段要求确认或者澄清，并加以跟踪。

数据管理中临床数据的质量控制包括数据库中数据和二次输入数据的计算机确认。这些行为确保数据是完整的、正确的和符合试验方案的。除了差异报告，随机选择字段的确认也常用来评估数据的质量。

差异报告是为研究者评估和修正准备的。申办者把电脑输出转化为界面友好的报告。这是研究基地协调者和对需要澄清的任何错误信息的数据管理者之间的直接交流。

研究基地代表直接在 CRF 页上做出修正，然后传真

给申办者。如果不使用传真技术，那么将修改的 CRF 页复印，并通过邮政或者送信人送给申办者。临床试验管理规范要求所有的修正必须由研究基地代表进行并签字。

一旦收到修改的复印页，数据管理者会在临床数据库中改变数据。临床数据库中所有的数据输入和变化都被保留在电子核查索引中。核查索引将追踪日期和时间标记，以及修改人的身份。

### 4. 正在进行的监视

一些查询工具可以用来追踪 CRF 表以及非 CRF 表数据的质量和完整性。很多跟踪报告存在于数据管理系统中，跟踪也可使用简单的、专门的查询工具，就像 Brio 甚至 SAS 工具。表 1 是研究者、监视跟踪试验病例入选过程的例子。

表 1 患者登记统计表

研究者	Inv ID	基地	总登记数	总活性	总完成数	早期
Smith, Michael	205000_P	15103_P	7	6	1	0
Sole, Thomas	205250_P	22609_P	1	0	1	0
Kay, James	205636_P	22938_P	12	10	2	0
Burn, Alan	205707_P	22997_P	4	4	0	0
Chub, Andrew	205708_P	22998_P	3	3	0	0
Door, Robert	205709_P	22999_P	3	3	0	0
Field, Roy	205713_P	23001_P	4	0	4	0
			34	26	8	0

纳入和排除标准通常都被列在 CRF 表中。研究者依据标准在研究中纳入或排除病例。监视员手工检查患者的医学记录，通过源文件确认或通过该患者的资料报告发现任何不符合规定的操作。

### 5. 数据库的关闭

研究完成后，数据管理员有责任确保数据没有错误并准备锁定研究，关闭数据库。锁定研究的目的是为了一旦揭盲后，确保任何存在地变化都被完整地稽查过。数据库关闭标志着研究阶段的结束和分析报告阶段的开始。无误数据的标准定义为：

- 所有内部显著性数据；
- 所有显著性差异已解决；
- 原始数据核对已完成；
- 临床数据评估已完成；
- CRF 表逐条评估完成；
- 所有的非 CRF 数据都已核对并处理。

数据管理系统通过各种报告和内部核查提供数据被完全清查的文件和确证。当数据符合要求后，小组成员和职能部门代表召开一次正式的会议，发出关闭数据库的信号，数据管理员锁定数据库。锁定限制了特权使用者改变数值的能力。它也开始了一个新的锁定后任何变化的稽查跟踪。

现在可以输入随机化编号，允许统计学家评估揭盲方式下的数据。这时任何药物代谢动力学数据也被装载，然后数据管理冻结数据库，现存数据库没有变化也没有新数据加入。

### 6. 研究表现的衡量

衡量表现是研究队伍用来追踪和管理研究的，衡量标准有助于发现和解决影响数据质量和研究时限的早期问题。

例如，衡量包含患者入选、随访、表格流程和临床数据库可以追踪的差异。一个从患者随访到入组的时间追踪报告例子见表 2。

表 2 从患者随访到入组的周数

研究者	Inv ID	Site	DCI 入组数	最少入组周数	最多入组周数	平均入组周数
Smith, Michael	205000_P	15103_P	640	0.0	32.0	4.8
Sole, Thomas	205250_P	22609_P	294	1.6	35.9	12.5
Kay, James	205636_P	22938_P	959	0.1	24.1	5.7
Burn, Alan	205707_P	22997_P	731	0.1	28.1	3.7
Chub, Andrew	205708_P	22998_P	1050	0.4	32.7	3.7
Door, Robert	205709_P	22999_P	679	0.1	23.6	1.9
Field, Roy	205713_P	23001_P	637	0.0	36.6	4.8
			4990			

## 7. 实验室数据

通常在临床实验中雇佣外部实验室测试实验的安全性和有效性。和实验结果一起，这些实验室也将提供测试单位和正常值范围。由于研究中或者多个研究中的许多患者都使用实验室，将可以接受的单位和范围一次输入系统，并与患者数据内部联系起来。中央存储值整个系统均能共享，并且保留转换因子，供将实验室结果转换成标准单位用。

## 8. 辞典

医学辞典广泛地应用于临床试验，对医学事件指定普通术语，如不良事件报告和临床诊断，也将治疗药物的商品名和通用名联系起来。辞典管理系统有助于维护正在使用的词典库（如 COSTART、WHOART、MEDDRA），并与报告和输入数据联系起来。

## 9. 药动学数据

在盲态研究中，输入正在研究的主要成分药动学数据可能会危及研究的盲态。因此，药动学数据经常被输入单独的数据库。仅仅在研究结束后和准备分析时将药动学数据载入数据管理系统。

# 分析和报告

## 1. 提炼数据

一个设计良好的数据管理系统主要用于促进临床数据的收集和清理。虽然它也必须支持分析和报告，但是它不总能满足所有的这些要求。因此，数据通常在临床数据库外部进行分析。

数据提炼是选择和复制数据字段至外部文件的过程。数据提炼程序通常产生一个简单的数据库映射文件，然后将数据转换成最佳的文件结构用于分析和报告。数据提炼可以导出另外的字段，将响应值标准化或解码，并更清晰地标注变量。

数据可以通过数据类型加以组织，如不良反应、实验室数据、人口统计学、体格检查等。因为在临床实验中存在很多种数据，可以设计和使用标准的文件结构。标准化允许有效软件的再使用，也有助于汇总整个试验数据，供项目安全性总结和其他数据报告用。

## 2. 导出

数据的导出可以用许多不同的方法。通常要么在临床试验数据库中计算，要么作为生成可供分析的数据集的一部分计算，数据集中加入了数值。

存储不变化值的导出是可取的，导出运算在临床试验数据库中被普遍接受。导出是不断变化着的数据库的一个结果，或者是专门用于一个研究的计算方法，在临床试验数据库外进行导出并作为已加入值的数据的一部分。

## 3. 报告工具

报告和分析通常持续贯穿整个研究。临床试验努力的结果是“最终报告”。

对于整个研究报告的生成，在市场上有很多报告工具适合于临床试验数据的查询。每个数据库拥有许多适合于生成简单的或中等复杂的报告工具，如 Oracle 有许多报告工具。这些报告基于许多友好的查询工具，能从许多不同的数据库中检索数据。Brio 可以生成包括多种表格的报告，并能对报告格式和分类进行适当地调整。更复杂的报告，像“缺失和延迟表格报告”通常用第三代语言如 C++ 编写，或者把数据取出数据库并使用外部程序工具。对于最终统计列表和表格，SAS 是行业标准。关于报告，应选择最能完成工作的工具。

## 4. CRF 表电子提交给管理机构

申办者可能被要求提供挑选的 CRF 表作为报告的一部分提交给管理机构。最近管理机构鼓励电子递交 CRF 表格。假设有综合的和索引设计良好的图像系统，有可能很方便地提交 CRF 的电子图像。如果这些文件必须手工编辑，可以采用不同的方法。要提交的 CRF 表可以用扫描仪生成 pdf 文件（通过 Adobe Acrobat Exchange）。同时要有

索引,便于检索表格。将索引过和图像转入 CDROM,供电子提交。

## 系统问题

### 1. 2000 年问题

“2000 年问题”曾经引起技术行业对行业中使用的自动化解决方案进行深入地观察。应用程序中有关数据的每个地方都要检查。在“2000 年问题”中,两数位数据特别麻烦,确认工作曾经消耗内部和软件供应商巨大的资源。

### 2. 升级

不管你的临床试验管理系统是内部开发的,还是从供应商购买的,后来总有机会经历升级。有时你可能需要升级个人计算机或服务器的操作系统,或者应用程序已经建立的数据库版本,或者应用程序软件本身。最糟的情况是你不得不一次全面升级。理想状态是你的应用程序环境由全功能和分开的测试环境组成。在测试环境下你可以测试所有的升级。测试应该是可执行文件的片段,目的是证明现有的功能仍能运行,所有新的功能也能运行。

理想情况下,应避免同时升级运行环境中的多个部件,比如上述最坏的情况。虽然多轮的测试很消耗资源,但在受控的环境中发现问题并加以解决更容易。当选择临床试验软件时有一点需要明白:供应商愿意提供操作系统和数据库的多个版本吗?这将会给你时间在两相方法中测试最坏的情形。

### 3. 转向、迁移和升级

和硬件一样,随着时间的推移软件变得陈旧。升级到软件或者硬件的最新版本可能是最容易的方法。但当你发现你必须转移到一个崭新的硬件或者软件环境中,要考虑好多事情。通常的软件和硬件的供应商会提供把现有的数据从一个系统移动或转换到其他系统的服务。应该仔细研究这个过程将会发生什么。转向很费力并很耗资。你应该切实关注是否在旧的系统中完成正在进行试验,或者在新系统中重新输入小规模研究的数据,这些策略常常比转换更简单,错误更少。

### 4. 系统验证

计算机系统验证是一个进行中的过程,包括系统生命周期中对所有组件的评价和文件,确保符合被认可的用户要求和质量标准。一个系统不仅仅是硬件和软件,还包括它使用程序的环境。用电脑系统验证使系统能收集、加工、捕获或者运算数据,并包含在递送给管理机构的文件中。验证要求有书面的证明文件,以证明系统满足预先指定的规格和质量。验证寻求确保系统在可控方式下被开发、测试和运行,执行和将继续准确可靠的运行,保证不受未授权的或意外的改变。除了证明系统组件的开发和运行之外,验证还包括证明硬件和软件变化可控、安全管理和培训。

### 5. 稽查追踪和变化可控

能够追踪临床试验数据库中数据的任何变化原因和来源是很重要的。很多应用软件内建有稽查追踪性能,追踪人们通过应用软件输入或修改的数据、时间、日期和用户 ID。一些应用软件甚至能提示数据变化的原因。任何可能的时候通过应用软件对任何数据的修改和删除都会记录。有时要修改的数据量很大、很复杂,要求外部干涉。如果计划在应用软件外修改临床试验数据库的数据,整个过程应该仔细地记录。就像任何软件的开发,用来输入或者更新数据的程序应该有设计文档、介绍模块的用途和预期性能,并有一套运行的测试例。通常将手工数据修改的要求和数据改变的手稿及相关文件置于同一文件夹,作为数据更改日志的备份。

## 参考书目

- Barkat, Mohammed. Quality Assurance/Quality Control Issues in GMP Regulatory Compliance. *Drug Inf. J.* 1997, 31, 765—769.
- Oracle Clinical Corp. Oracle Clinical User Reference; Oracle Clinical Corp.: Redwood Shores, CA, 1—10.
- Shapiro, S. H. *Clinical Trials: Issues and Approaches*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1983.
- Spilker, B. *Guide to Clinical Trials*; Raven Press: New York, 1991.

(黄卓译)

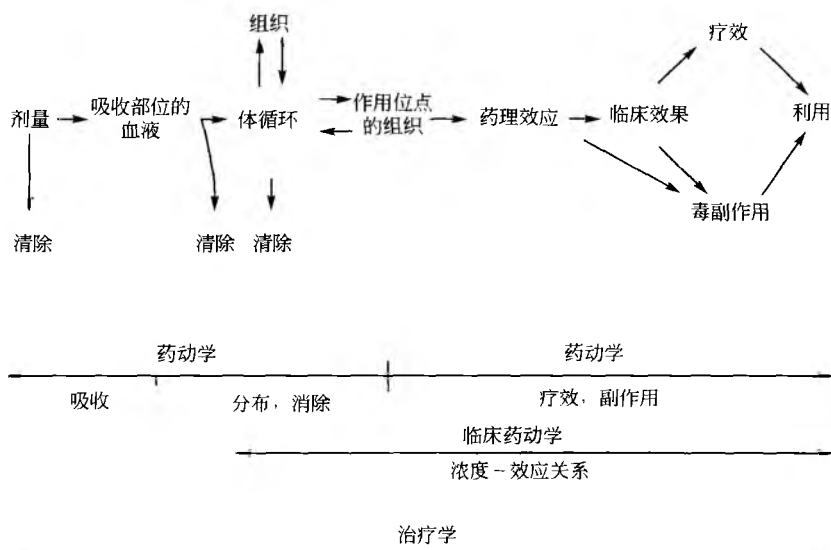
L

L

## Laviero Mancinelli

## 背景介绍

与药物动力学联系起来了。由于药代动力学研究不仅能反映给药剂量和血药浓度之间的关系,还能反映疾病状态对药物在体内代谢过程的影响,因此已变得日益重要。当把药代动力学和药效学研究结合起来,便成为药物研究的有力工具。临床药代动力学的研究目的在于优化个体患者的用药剂量。通过血药浓度测定和临床药代动力学原理,所调整的给药剂量将在最高的安全系数下给患者带来最大治疗效果。



掌握药代动力学的基础知识不但能让临床医生很好地了解基本的药物和患者的相互关系,同时也使制药企业在新药研发设计出相关研究方案。设计合理的药动学研究能给患者提供更好的治疗并使制药企业能节省远期开支。

## 药效学

其血药浓度的任一改变都能立刻导致相应的药效变化。对于有些药物,这一关系比较复杂;如华法林的血药浓度变化将引起一连串的连锁反应,从而导致凝血时间的延迟,在此,平均稳态血药浓度比药一时浓度更能反映治疗效果。在一些情况下,药效定量和显示上述关系都有难度,如在人群中游离药物的血药浓度都保持在某一稳定水平,那么药物疗效的个体差异就应归咎于药效受体水平的个体差异。然而多数情况下,都把药效与给药剂量联系起来,而非血液游离药物的稳定浓度水平。当分析给药剂量和药效关系时,需考虑药物吸收、首过效应、蛋白结合和清除率的差异,因而使得给药量和药效之间的关系更多变、更复杂。

Hill 方程或称扩展  $E_{\max}$  模型<sup>[1]</sup>, 反映了药物浓度 ( $C$ ) 和药效 ( $E$ ) 之间的关系:



$$E = \frac{E_{\max} C}{EC_{50} + C} \quad (1)$$

式中： $E_{\max}$ 为最大效应值； $EC_{50}$ 为药效为最大值的50%时的血药浓度； $s$ 为斜率。Hill方程根据情况可做不同程度的简化，例如，当 $s=1$ 时。

当药效介于最大效应的20%和80%时，血药浓度和药效间为对数关系：

$$E = m \log C + e \quad (2)$$

式中： $m$ 为斜率； $e$ 为截距。这一公式的局限性在于它不能预估超出上述效应范围（即<20%，>80%）的药效值。

当药效小于最大效应的20%时，血药浓度和药效间为线性关系：

$$E = mC + e \quad (3)$$

其实当药效小于最大效应的50%时，均可用此式；然而这只是一个粗略的估计，其准确程度由 $s$ 值而定，即 $s$ 值越小，估算越准。

只有在获得整个药效范围内的数据后，并能合理估算 $E_{\max}$ 值时，才能应用Hill方程。如只能获得低药效区域的数据时，可以运用线性方程。Hill方程与线性或对数式的区别在于Hill方程能反映药物起效的作用机制，而其他方程只是数值上的描述。

Sheiner等<sup>[2]</sup>把药理学模型〔式(1)〕和药代动力学模型有机地融合起来，得到了一个关系式，不仅能描述稳态浓度的量效关系（如 $EC_{20}$ ， $EC_{50}$ ， $EC_{90}$ 等），还能反映迅速变化的血药浓度与由这一浓度产生的药效之间的时滞。这一时滞参数表达为平衡半衰期。运用期待的药效和产生药效所需的时间等参数，研究人员就能获得药物在患者体内未达到稳态血药浓度时的量效关系。

药物的稳态血药浓度及所测定的相应药效之间的关系有时呈钟形曲线（如去甲替林）有时呈U形曲线（如可乐定）。Paalzow等<sup>[3]</sup>认为一些特殊形状的药物量效关系曲线主要是由多个受体响应而造成的，其中包括U形曲线所反映的可乐定降压作用的量效关系。由于这些药物作用于不同的受体，因此在不同的血药浓度时可产生相反的作用。

药效的耐受性是指随着用药时间的延长药效会逐渐下降，同时量效关系也不明显了。这一耐受性有可能由药代动力学和（或）药效学的原因引起。例如，药代动力学耐受可以是代谢酶的诱导引起，从而降低血药浓度。药效学耐受主要有两种不同的途径：一方面药物可引起受体数量下调从而降低药效；另一方面长期用药也可导致一些对抗药效的生理机制的产生。例如，胍屈嗪的降压作用因心跳补偿性的增快而降低，呋塞米的利尿作用减小的原因是由药物引起的排水排盐作用。

图2所列药物的效用曲线。这种曲线描述了药物的临床效用，并表明血药浓度过高时可产生副作用，而血药浓度过低可导致失去药效。疗效曲线和毒副作用曲线相距越近，临床治疗的浓度范围就越小。这一效用曲线就是有效曲线和毒性曲线的差值。

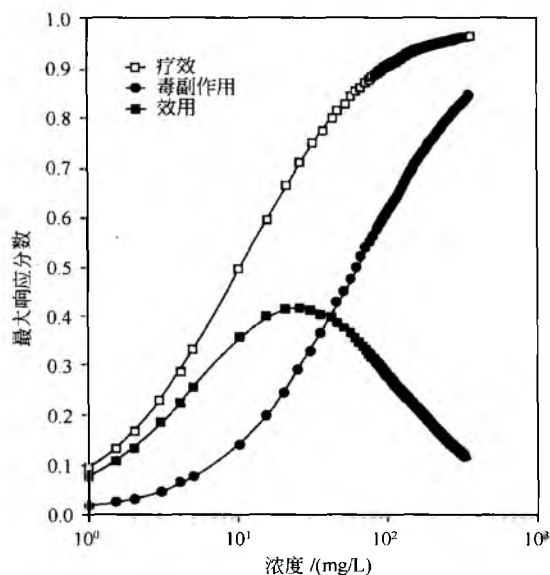


图2 根据公式(1)所作的药物疗效-浓度曲线和毒副作用-浓度曲线以及此药物的效用曲线。半数治疗浓度为10mg/L，半数毒性浓度为60mg/L，因而治疗系数为6， $s=1.0$ 。效用曲线是有效曲线和毒性曲线的差值

根据量效曲线的斜率〔式(1)中的 $s$ 值〕大小不同，血药浓度的增加可产生不同程度的药效变化。当曲线极其陡直时（ $s>6$ ），便出现量效关系中的全或无现象。茶碱类药物平喘作用的量效关系不明显，也就是说，虽然血药浓度大幅度增加，但其药效却增加很小；然而此类药物的毒副作用与血药浓度关系曲线很陡，因此茶碱的血药浓度必须保持在20mg/L以下。由于茶碱类药物的平喘作用只有在血药浓度大于10mg/L时才能实现，因此此药的治疗窗很窄。

药物效用度的另一种表达法为引起毒副作用的血药浓度与治疗浓度的比值（治疗指数）。茶碱的治疗指数为2，毛地黄为1.6，呋塞米为40。治疗指数越高，推荐剂量引起严重毒副作用的风险越小。

## 药物的清除率

药物的清除率是衡量人体消除药物的能力，这是药代动力学中的一个重要参数。它反映了药物从机体或某个器官中消除的相关生理过程。清除率反映了血药浓度和消除速率之间的关系〔式(4)〕；同时由于在血药浓度达到稳态时，用量与消除量完全达到了动态平衡〔式(5)〕，因此清除率也反映了平均稳态血药浓度 $C_{ss}$ 与给药速度的关系。

$$\text{清除率} = CLC \quad (4)$$

$$\text{给药速度} = CLC_{ss} \quad (5)$$

自20世纪70年代中期开始清除率的概念就在药代动力学中被运用<sup>[4,5]</sup>。这一概念是基于对肾脏功能（肌酐的清除）的描述。肌酐是通过肌肉组织的分解以恒定速度生成

的,所以肌酐在血液中的浓度是固定的。这一浓度的大小是由肾脏消除率和肌肉的分解速度而决定的。由于肌酐主要过滤到尿液中,因此通过测量其血中浓度和肾脏排除量,就可估算出肾脏清除率,从而检测肾功能。

$$\text{肌酐清除率} = \frac{\text{尿液体积} \times \text{尿药浓度}}{\text{血药浓度}} \quad (6)$$

然而肾脏并不是药物从体内消除的唯一途径,由于它也有可能通过肝脏排入胆汁,或在肝脏或别的组织中被代谢,因此给直接测量某种药物的清除率带来了一定的难度。其他消除途径包括呼出气体、唾液、汗液、部分组织积存、从血液进入肠腔以及在内脏和肺等器官中进行代谢。因此总清除率可定义为

$$CL = \frac{Dose_{iv}}{AUC} \quad (7)$$

式中:  $Dose_{iv}$  为静脉注射剂量;  $AUC$  为药-时曲线下面积。在连续给药情况下,总清除率等于给药速度除以  $C_{ss}$  [由式(5)求出]。

根据药物浓度测定的体液不同,清除率可分为血浆清除率( $CL_p$ )、血液清除率( $CL_b$ )或游离药物清除率( $CL_u$ )。总清除率为各器官清除率的总和,其中最重要的是肾脏的清除率  $CL_R$  和肝脏清除率  $CL_H$ 。

$$CL = CL_R + CL_H + CL_{gut} + CL_{other} \quad (8)$$

肾清除率能通过测定未降解药物在尿液中的排除速度而获得,如肌酐,总清除率和肾清除率的差值称为非肾清除率。因此非肾清除率是指除尿液原形药物排除外的药物清除率,它包括药物在肝脏的代谢和在其他器官的清除。

清除率的单位为单位时间的体积,如  $mL/min$  或  $L/h$ ,与血流速度的单位一致。清除率的含义就是在单位时间内,有多少体积血浆(血液)中的药量被清除。对于某些药物,单靠肝脏或肾脏便可把流经此器官的全部血中的药物清除掉。例如,  $p$ -氨基马尿酸(PAH)的肾血浆清除率为  $600 \sim 700 mL/min$ ,这与肾脏血浆流速相等。由于PAH不能分布进入红细胞,因此PAH的肾血液清除率与肾脏血液流速相等[具体计算参见下段中用式(9)计算的丙咪嗪清除率,  $C_{RBC}/C_p = 0$ ]。因此,当消除器官对药物具有较高的清除能力时,药物的血液清除率便为此器官的血液流速。由于器官对药物的清除速度总是小于药物输入器官的速度,因此血液流速便限制了清除率,因而肝脏血液清除率低于  $1.5 L/min$ ,肾脏血液清除率低于  $1.2 \sim 1.3 L/min$ 。

但是某些药物的血浆清除率却大于消除器官的血液流速。例如,丙咪嗪的血浆清除率为  $1050 mL/min$ <sup>[6]</sup>,这一数值大于其主要消除器官肝脏的血液流速。这是由于相当一部分药物分布在红细胞内( $C_{RBC}/C_p = 2.7$ ),使得其血液浓度大于其血浆浓度,这样随血液进入肝脏的药量明显大于单从血浆中测得的表现药量。血药浓度稳态时,药物的血浆和血液清除率之间的关系如式(9)所示:

$$\frac{CL_p}{CL_b} = \frac{C_b}{C_p} = 1 + H \left( \frac{C_{RBC}}{C_p} - 1 \right) \quad (9)$$

计算丙咪嗪的血液清除率时,将此药在红细胞和血浆中的浓度比值和平均血容比值( $H=0.45$ )代入式(9),计算

得其血液清除率为  $595 mL/min$ 。这一数值小于肝脏的生理血流速度。丙咪嗪的血浆清除率大于血液清除率也同时表明红细胞中分布的药物可通过与血浆中的药物浓度迅速达到平衡而随时被代谢酶代谢。因此血浆清除率可被看成非“生理”值。然而如用血液中的药物浓度来计算清除率,那么可能出现的最大清除率将等于流经所有消除器官的血流速度的总和。如药物的清除率比总血流速度还高,那此药有可能被肝脏或肾脏以外的器官所清除,如硝酸甘油能同时在血液和组织中代谢。药物在某个器官中的消除速率为药物流入器官的速度与流出器官速度之差。其中的流入速度等于此器官的血流速率乘以进入的血药浓度( $QC_{in}$ ),其中的流出速度等于此器官的血流速率乘以输出的血药浓度( $QC_{out}$ ) (图3)。

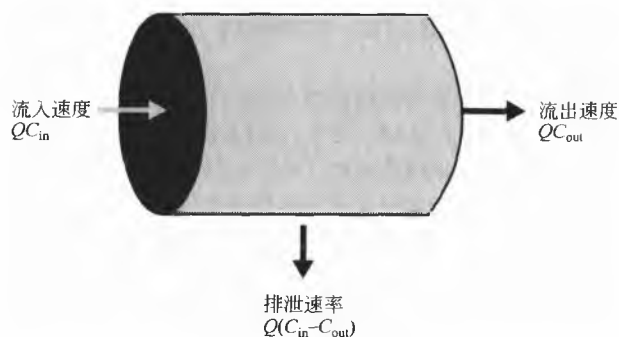


图3 药物在其清除器官的过滤过程

$$\text{清除率} = QC_{in} - QC_{out} \quad (10)$$

将式(10)代入式(4),即可求得某个器官的药物清除率。

$$CL_{organ} = \frac{Q(C_{in} - C_{out})}{C_{in}} = QER \quad (11)$$

以血流速度和  $ER$  表示,其中  $ER$  为药物滤过率(extraction rate)为  $(C_{in} - C_{out})/C_{in}$ 。具有高消除能力的器官对血液中药物有很大的滤过能力。

如果某个器官对药物具有很高的滤过能力,那么在该器官流出的血药浓度将远远小于流入的血药浓度,  $ER$  值趋近于1。反之,如滤过能力很小,那么流入和流出的血药浓度就相差很小,  $ER$  值趋近于零。因此滤过率也可表达为某个器官血流量被器官清除的比例( $ER = CL_{organ}/Q_{organ}$ )。目前已有的一些模型用来反映肝清除率和一些生理参数的关系,包括液体被充分搅动的平行管模型<sup>[7,8]</sup>、分布模型<sup>[9,10]</sup>和散布模型<sup>[11~14]</sup>。液体被充分搅动的平行管模型是最容易理解和最常用的模型,下面我们就来讨论这种方法。

搅动模型的最初假设是:在流出肝脏等器官的血液中游离态药物的浓度等于它在器官内的通常药物浓度,也就是说当药物进入器官时有一个瞬间“混合”。这样,最终的肝清除率就包括了肝脏对整个血流中药物的代谢和对游离态(游离态分数,  $f_u$ )及蛋白结合态药物的消除,其表达式如下:

$$CL_H = Q_H \frac{f_u CL_{u, int}}{Q_H + f_u CL_{u, int}} \quad (12)$$

当肝脏对药物的代谢能力比药物进入肝脏的速度更大时 ( $f_u CL_{u, int} \gg Q_H$ ), 肝清除率就趋向于肝脏的血液流速。这时药物呈高滤过率。

$$CL \approx Q_H \quad (13)$$

当肝脏固有的代谢能力减小或药物无法有效到达代谢酶部位时, 肝脏对药物的代谢能力比药物进入肝脏的速度小 ( $f_u CL_{u, int} \ll Q_H$ ), 肝清除率就趋向于肝脏的固有代谢能力。这时药物呈现低滤过率。肝清除率便趋向以下值:

$$CL \approx f_u CL_{u, int} \quad (14)$$

当介于上述两种极端情况时, 肝清除率取决于三个因素: 游离态药物的分数、器官的固有清除率和肝脏血流。其中游离药物的清除率  $CL_u$  等于  $CL/f_u$ 。

我们可以由此推测肾脏的主动排除机制也可用这种搅动模型来描述。然而, 肾脏还有多种药物清除途径, 如被动过滤和重吸收。

药物的肾清除可定义为药物通过过滤和分泌排出的清除率总和减去重吸收的速率, 公式如下:

$$CL_R = CL_{filtration} + CL_{secretion} - CL_{reabsorption} \quad (15)$$

或

$$CL_R = (CL_{filtration} + CL_{secretion})(1 - \text{药物被重吸收的比例}) \quad (16)$$

肾脏的过滤速率主要是由肾小球的过滤速率、GFR (健康的年轻人为 120 mL/min) 和溶于血清的药物量, 即游离态部分的药物  $f_u$  决定的。

$$CL_{filtration} = f_u GFR \quad (17)$$

通过比较过滤引起的清除率和检测到的总肾清除率, 便能分析药物在肾脏被清除的机制。根据  $f_u$  值的不同, 药物有不同程度的被动过滤。当  $CL_R > CL_{filtration}$  时, 药物也通过分泌的途径被清除, 同时还可能存在药物的重吸收, 但此时重吸收度应小于分泌度。当  $CL_R < CL_{filtration}$  时, 表明存在着重吸收的途径, 但也不排除药物被分泌排出的可能。最后当  $CL_R = CL_{filtration}$  时, 药物仍有可能同时被分泌和重吸收, 但这两种途径的程度应是相等的。所以只看药物的清除率数值是不能最终判断它是否被重吸收。

### 肠代谢和肠清除

最近认为口服吸收药物的小肠代谢和主动排除是制约口服药物的生物利用度的主要因素<sup>[15]</sup>。实际上包括个体差异在内的许多因素都能决定口服药物吸收的程度。口服药物的生物利用度 ( $F_{oral}$ ) 取决于下列体内过程: 输送至肠腔 (影响因素: 胃排空、pH 和食物)、在肠腔中的吸收 (影响因素: 药物的溶解度、亲脂性、颗粒大小、主动吸收)、小肠代谢 (包括 I 相/II 相)、主动排出 (药物排出泵) 和肝脏首过代谢<sup>[16]</sup>。

细胞色素 P450 3A 酶簇是人体药物 I 相代谢的主要代谢酶。CYP3A4 是其中的主要异构酶, 它是成人肝脏和小

肠中主要的酶。在所有被人体 P450 酶系统催化代谢的药物中, 被 3A4 酶系统代谢的药物占 P450 酶系统的底物<sup>[17]</sup>的一半以上。CYP3A4 在人体肝脏和小肠中的含量在人群中存在很大差异, 在肝脏中的含量变化在 10~100 倍, 而在小肠中的含量变化在 30 倍左右<sup>[18]</sup>。同时 CYP3A4 在小肠中的含量只有肝脏中的 10%~50%, 并且小肠各部位的酶含量及其活性随其在纵向的延伸而递减<sup>[19]</sup>。CYP3A4 亚类中的各种酶约占所有代谢药物的肝脏药物代谢细胞色素的 30%, 并至少占小肠细胞色素的 70%<sup>[20]</sup>。

以前人们认为, 药物在肠腔中的吸收是被动过程, 而很少注意逆向转运系统的活性。目前, P-糖蛋白 (P-gp) 已被检测出是一种 ATP-依赖的输出转运器, 它在空肠的柱状上皮细胞的顶部表面有高度表达<sup>[21]</sup>。P-gp 是 ATP-依赖 (ABC) 运输蛋白家族中研究最透的一个, 由人体中抗多种药物基因 MDR1 表达而来。P-gp 在很多组织中都有表达, 包括肾上腺、膀胱、组成血脑屏障的细胞、肾脏、肝脏、肺、胰腺、直肠、脾脏, 还有对口服药物生物利用度尤为重要的食道、胃、空肠和结肠<sup>[21~23]</sup>。与 CYP3A 正相反, 小肠各部位的 P-gp 含量随纵向延伸而逐渐递增, 胃部含量最低, 结肠部含量最高。

由于 CYP3A 和 P-gp 共同存在于小肠的肠道细胞中, 同时它们有明显重叠的底物, 因此被认为对口服药物的生物利用度有同样重要的作用<sup>[21, 24~28]</sup>。在细胞中, P-gp 横跨肠道细胞的细胞膜, 而 CYP3A 存在于胞浆中的内质网上。虽然这两种蛋白的基因表达过程并非相互协调<sup>[29, 30]</sup>, 但它们在空间上接近程度却提示 P-gp 的作用可能是调节药物 (底物) 接近 CYP3A 而代谢。如图 4 所示, 通过 P-gp 作用, 药物被肠道细胞反复地吸收和排出, 导致它不断暴露于 CYP3A, 从而导致药物代谢的增多, 口服生物利用度降低。由于上述两种蛋白的存在部位相邻, 同时又有相当部分的重叠底物, 所以在药物的吸收动力学中起着互补的作用。

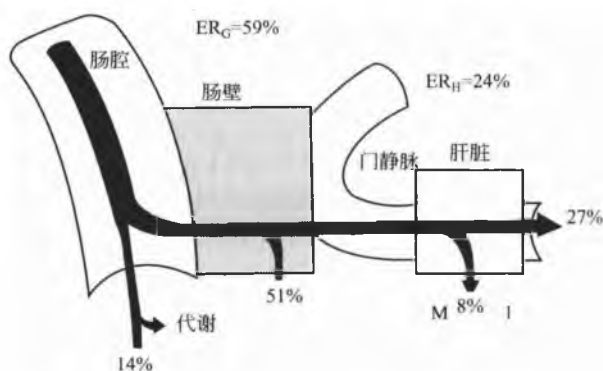


图4 Sandimmune® (环孢素) 的体内吸收, 代谢和清除过程。此药的口服生物利用度为 27%<sup>[15]</sup>。口服后, 药量的 14% 在消化道腔内通过 P-gp 逆向转运或代谢而未被吸收 (流失), 51% 的药量由于消化道细胞的代谢作用而流失, 8% 的药量的流失是由于肝脏的首过代谢效应而引起的

口服药物生物利用度 ( $F_{\text{oral}}$ ) 的计算如式 (18) 所示, 它等于吸收分数 ( $F_{\text{abs}}$ ) 乘以被吸收药量中进入肝脏门脉血流而未被代谢的部分 ( $F_G$ ), 再乘以肝脏首过效应后的利用度 ( $F_H$ )。

$$F_{\text{oral}} = F_{\text{abs}} F_G F_H \quad (18)$$

肠和肝脏利用度 ( $F_G$  和  $F_H$ ) 可分别表示为 1-肠滤过率和 1-肝滤过率。

$$F_{\text{oral}} = F_{\text{abs}} (1 - ER_G) (1 - ER_H) \quad (19)$$

其中肝滤过率可通过静脉注射药物后, 计算肝清除率 ( $CL_H$ ) 和肝脏血流速度 ( $Q_H$ ) 的比值来获得。

$$ER_H = \frac{CL_H}{Q_H} = \frac{f_u CL_{u, \text{int}}}{Q_H + f_u CL_{u, \text{int}}} \quad (20)$$

所以

$$F_H = \frac{Q_H}{Q_H + f_u CL_{u, \text{int}}} \quad (21)$$

肠的滤过率需要用实验加以推测来求得。如评估酶诱导剂 (如利福平) 对一些口服和静脉注射药物的肠滤过率的影响, Wu 等<sup>[31]</sup> 首次运用了这一实验来研究环孢素, 又如用测量门脉中血药浓度的方法, 这种方法被 Thummel 及其助手首次用来测定咪达唑仑<sup>[19]</sup>。

当肝脏首过效应不太高时, 小肠 CYP3A 和 P-gp 的协同作用对口服生物利用度的影响将很显著。但如肝脏滤过效应很高时, 会掩盖小肠中的作用。抑制或诱导 CYP3A 将直接改变药物的口服生物利用度, 相反, 抑制或诱导 P-gp 将导致药物吸收速度 ( $T_{\text{max}}$ ) 的变化, 从而意味着药物与小肠代谢酶接触程度起了变化, 因此药物的口服生物利用度也受到了影响。

许多常见的药物都是小肠中肠细胞内 CYP3A 和 P-gp 的共同底物, 因此很多药物生物利用度的变化一般都是由于小肠代谢的结果, 或是已经吸收的药物又被反转运进入了肠腔。因此, 理论上选择性地阻断上述途径便能提高生物利用度, 从而减少吸收的显著差异。现在使用特殊的调节剂改变小肠代谢和小肠细胞反转运的能力, 能改善许多药物的治疗效果。

## 药物分布

通过系统性循环, 药物分子可以从给药部位被输送到人体各组织器官。然后根据药物的不同化学性质, 如脂溶性和离子化程度等, 药物就可以不同程度分布到不同组织中。

药物在某个组织中的分布速率取决于药物的分配系数和这个组织中的血流速度。分配系数为平衡时组织中的药物浓度与血药浓度的比值。组织的灌注速度 (每单位体积组织中的血流速度) 越高, 药物在血液和组织中间动态平衡就能越快达到。同时, 如果药物在某个组织中的分配比例越高, 由于有更多的药物进入这个组织, 所以达到血液和组织中动态平衡就需要更多的时间。

在血液中, 药物溶于血浆 (游离浓度  $c_u$ ), 还能与血浆蛋白结合, 或聚集在红细胞内。其中只有游离态药物分子才能透膜扩散进入组织。当达到动态平衡时, 可以认为全身各处游离态的药物浓度是相等的。

## 药物的分布容积

为了测定药物浓度, 将血样离心, 分析测定血浆中的药物浓度, 药物的体内药量与其在体内的浓度 ( $c$ ) 之比称为分布容积 ( $V$ ):

$$V = \text{体内药量} / C \quad (22)$$

当药物的体内浓度从全血 ( $C_b$ )、血浆 ( $C_p$ ) 或血清 ( $C_u$ ) 这些不同的体液中测得时, 由于浓度不同, 药物的分布容积也会不同。

药物的分布容积是一个比例常数, 它可大于或小于真正的生理体液量, 取决于药物与血浆成分或其他组织的亲和力的大小。一个正常的成人重量为 70kg, 血浆容积为 3L, 全血容积大约为 5.5L, 血管外体液是 12L, 总体液容积为大约 42L。

为测定药物的分布容积, 必须静脉给药。Benet 和 Galeazzi<sup>[32]</sup> 描述了静脉注射后, 用非房室模型的药时曲线数据, 计算分布容积, 公式如下:

$$V_{ss} = \frac{\text{Dose}_{iv} \text{AUMC}}{\text{AUC}^2} \quad (23)$$

式中:  $V_{ss}$  为在达到稳态时药物在体内的表观分布容积; AUC 是药时-浓度曲线下面积, 而 AUMC 为一阶血浆浓度-时间曲线下面积, 即血药浓度与时间  $t$  的乘积曲线在时间  $0 \rightarrow \infty$  时的曲线下面积。稳态时的分布容积也可采用房室模型进行计算, 那就要用指数多项式中的系数和指数拟和数据<sup>[33]</sup>。

我们还可利用  $V_{area}$  来表示药物的分布容积。这一参数取决于末端消除半衰期, 换言之, 也就是由末端消除速率常数  $\lambda_z$  决定,  $\lambda_z = 0.693/t_{1/2}$ 。

$$V_{area} = \frac{\text{Dose}_{iv}}{\lambda_z \text{AUC}^2} = \frac{CL}{\lambda_z} \quad (24)$$

式中:  $\text{Dose}_{iv}/\text{AUC} = CL$ , 是由式 (7a) 推断而来。虽然  $V_{area}$  的计算较简单, 但是半衰期改变时,  $V_{area}$  也会改变, 而药物的半衰期在各类患者体内会有差异, 造成本来一致的分布容积出现差异。与  $V_{area}$  相反, 理论上  $V_{ss}$  值是不受消除相变化的影响。所以当检测药物的分布和 (或) 清除过程是否受某种疾病状态的影响, 最好使用  $V_{ss}$ 。表 1 中所举的例子就说明使用不同的容积得出不同的结论。6 个健康者<sup>[34]</sup> 和 3 个尿毒症患者<sup>[35]</sup> 中头孢孟多药代动力学研究表明, 由于此药几乎全部从肾脏消除, 尿毒症导致了此药清除率的急剧下降 (24 倍), 消除半衰期只增加 11 倍, 因此两组受试者之间的  $V_{area}$  差异达两倍多 [式 (24)]。这一计算表明肾功能降低不仅影响头孢孟多的体内消除, 同时也使此药在体内的表观分布体积大为减少。然而,  $V_{ss}$  计算值却表明两组受试者之间的头孢孟多分布无明显差别。

表1 头孢孟多在健康人体和尿毒症患者体内的药代动力学参数

参数	正常人 <sup>1)</sup>	尿毒症患者 <sup>2)</sup>	显著性
CL/ [mL/(min · kg)]	2.81 ± 0.98	0.115 ± 0.023	$P < 0.05$
$t_{1/2}/h$	1.2 ± 0.2	13.0 ± 4.5	$P < 0.05$
$\lambda_z/h^{-1}$	0.576 ± 0.096	0.0534 ± 0.0187	$P < 0.05$
$V_{area}/(L/kg)$	0.298 ± 0.104	0.138 ± 0.048	$P < 0.05$
$V_{ss}/(L/kg)$	0.161 ± 0.050	0.134 ± 0.045	n. s.

1) 数据摘自文献 [34]。

2) 数据摘自文献 [35]。

注: 所列数据为  $\pm$  S. D.

## 消除半衰期

半衰期是药代动力学参数中最“老”和最出名的一个参数。它表示体内药物量减少一半所需要的时间。在多次用药的情况下, 半衰期能用来计算血药浓度达到稳态时所需的时间。另外, 它还能用来计算药物中毒后, 药物量或浓度下降到安全范围所需的时间。在多次给药时, 因为血药浓度达到 50% 稳态水平时只需一个半衰期的时间, 而达到 75% 时需两个半衰期的时间, 接着达到 87.5% 和 93.75% 的稳态浓度时, 分别需要 3 个和 4 个半衰期的时间, 由此可推血药浓度达到 90% 的稳态水平, 需要 3.3 个半衰期。同理可推, 从体内消除 90% 的药物也需要 3.3 个半衰期的时间。

半衰期可通过血药浓度的对数对时间做曲线方便地求得, 很久以来它都被认为是药物的一个最重要的特征。以前的研究多只用这一参数来说明药物在疾病状态的清除变化。但目前却认为半衰期是处于第二位的、由推导而得到的参数, 它的大小是由清除率 (CL) 和分布容积 (V) 这两个重要参数决定的:

$$t_{1/2} \approx \frac{0.693V}{CL} \quad (25)$$

由于半衰期可随清除率或分布容积的改变而改变, 如研究肝脏疾病对药物药代动力学过程的影响, 光看半衰期这一参数是不够的。另外, 如果在某个疾病状态清除率和分布容积的变化率相等时, 半衰期就仍保持不变。

清除率和分布容积是两个完全独立的描述药物特征的参数。它们与机体的生理功能紧密相关, 因此也成为主要参数。清除率描述人体通过代谢、肾脏或胆消除排出药物的能力, 而分布容积是衡量药物和人体各组成部分之间物理相互作用 (如药物与血浆蛋白的结合及药物在肌肉、组织和脂肪中的分布) 的参数。

## 蛋白结合

当药物达到稳态浓度时, 药物在体内的分布受其与血浆蛋白、与红细胞、与受体的结合程度的影响。只有游离态药物才能自由出入血浆和各组织。所以表观分布容积可

以由式 (26) 表示<sup>[36]</sup>。

$$V = V_p + V_{TW} \frac{f_u}{f_{u,T}} \quad (26)$$

式中:  $V_p$  为血浆容积;  $V_{TW}$  为组织液的容积;  $f_u$  表示血浆中药物的游离态部分;  $f_{u,T}$  表示组织中药物的游离态部分。人体血浆中含有 60 多种蛋白质, 其中主要的是白蛋白, 它能与血浆中的大多数药物结合。酸性药物主要与白蛋白结合, 有些药物的这种结合具有很高的亲和力, 如咪唑米与白蛋白的结合率高达 98%~99%, 华法林的结合率为 99.5%。虽然碱性药物与白蛋白的亲合性较低, 但它们却很容易和  $\alpha_1$ -酸性糖蛋白等血浆脂蛋白结合。由于这些蛋白在血浆中的含量均小于白蛋白, 这种结合较容易达到饱和, 以致造成血浆治疗浓度范围内游离态药物分数的波动, 如泼尼松龙和丙吡胺就属上述情况<sup>[6]</sup>。由于药物与血浆蛋白和器官组织的结合有很大程度上是非选择性的, 使得一些化学结构相似的药物互相竞争同一结合位点。有人担心血浆蛋白结合位点的竞争性取代会引起药物的毒副反应, 这种担心是有些过分了。体外研究已发现咪唑美辛能在体外显著降低华法林与人血清白蛋白的结合<sup>[37]</sup>, 但这一发现还未在体内实验中得以证实<sup>[38]</sup>。其实一些改变药物与体内血浆蛋白结合的因素并不能影响游离态药物的稳态浓度, 除非此药物具有很高的蛋白结合率, 如 90% 以上<sup>[39]</sup>。事实上, 任何药物在血浆和各组织中的储存是处于一种动态平衡状态的。它与各组织和血浆蛋白的结合是可逆的, 且变化很快, 可在毫秒瞬间重新达到动态平衡。因此当血浆中的游离态药物量由于更高活性药物配体的竞争机制或饱和动力学的作用而变化时, 组织中储存的药物就会进入血浆很快进行补偿, 没有必要调整给药剂量。

当肝硬化和肾综合征所引起的血浆中白蛋白含量下降时, 其他血浆蛋白浓度也会因此发生变化 (表 2)。 $\alpha_1$ -酸性糖蛋白浓度的增高和心肌梗死、炎症及手术等引起的压抑反应有关<sup>[41]</sup>。由于一般的血药浓度检测方法无法区分结合态和游离态药物, 因此测得的血浆药物浓度会引起误解<sup>[42]</sup>, 这是药物与竞争性结合血浆蛋白带来的一个更相关的问题。另外只有当总的药物浓度和血浆蛋白浓度相接近时, 它们的结合程度才呈浓度相关性。假设一个药分子只与一个蛋白分子结合, 那么健康人血中与白蛋白结合的药物量应为 0.6mmol/L, 而与  $\alpha_1$ -酸性糖蛋白结合的药物含量

为 0.015mmol/L; 如果此药的相对分子质量为 250, 那么要与这两种蛋白的结合取得饱和, 药物的含量应分别为 150mg/L 和 4mg/L。

表 2 引起两种主要血浆蛋白含量变化的一些身体状况<sup>[40]</sup>

血浆蛋白	身体状况	浓度变化
白蛋白	肝硬化	降低
	烧伤	
	肾病综合征	
	肾病晚期	
	怀孕	
$\alpha_1$ -酸性糖蛋白	心肌梗死	升高
	手术	
	节段性回肠炎	
	风湿性关节炎	
	外伤	

### 1. 蛋白结合的变化对分布容积的影响

如式 (26) 所示, 某药物与血浆蛋白的结合程度越高 (即  $f_u$  低), 它的分布容积就越小。白蛋白浓度下降时, 药物与血浆蛋白结合的分数也变小, 增多的游离药物可自由扩散到其他组织中。与血浆蛋白结合不同, 与组织受体的结合不能直接测定。我们假设  $f_{u,T}$  为常量, 因此由式 (26) 得出表观分布容积增高。但是只有当药物本身的血浆蛋白结合率很高 (>90%), 组织结合率更高时, 药物的表观分布容积才会高, 对于表观分布容积值较低的药物来说, 它与血浆蛋白结合的程度变化并不显著改变其体内的分布容积。但是分布容积的变化并不影响给药速度与稳态浓度之间的关系 [式 (5)]。

### 2. 蛋白结合的变化对清除率的影响

如式 (12) ~ 式 (14) 所示, 对于器官滤过率较低的药物如氯氮草来说,  $Q_{organ}$  比  $f_u CL_{int}$  大很多, 因此它的清除率大小大约相当于  $f_u CL_{int}$ 。然而对于器官滤过率较大的药物如利多卡因来说,  $f_u CL_{int}$  远远大于  $Q_{organ}$ , 因此清除率接近于整个器官的血流速度。所以具有高滤过率的药物, 它的器官血流灌注速率限制了其清除率, 不受蛋白结合的影响; 低滤过率药物的清除率是由其游离态分数和肝脏等器官的固有滤过率 ( $CL_{int}$ ) 所决定的。

## 体内的暴露程度

多数药代动力学理论都关注用固有清除率、血流量和药物游离态分数这些参数来表达药物的清除率和生物利用度 [式 (12) 和式 (21)]。然而患者对药物和给药模式的反应主要取决于患者对药物的暴露程度, 药代动力学参数

AUC 就很好地反应了这一程度。因此用暴露程度的概念来反映  $f_u CL_{int}$  和  $Q$  等参数的重要性是比较有意义的。首先看一下静脉给药的情况, 由式 (7) 可得

$$AUC = \frac{Dose_{iv}}{CL} \quad (27)$$

假设肝脏是此药消除的唯一器官, 那么把式 (12) 代入式 (7) 得到

$$ACU = \frac{Dose_{iv}(Q_H + f_u CL_{u,int})}{Q_H f_u CL_{u,int}} \quad (28)$$

对于器官滤过率较大的药物来说 ( $f_u CL_{u,int} \gg Q_H$ ), 其体内暴露程度与肝脏血流成反比

$$AUC \approx \frac{Dose_{iv}}{Q_H} \quad (29)$$

而对于器官滤过率较小的药物来说 ( $f_u CL_{u,int} \ll Q_H$ ), 其体内暴露程度与游离态分数和肝脏固有清除率成反比:

$$AUC \approx \frac{Dose_{iv}}{f_u CL_{u,int}} \quad (30)$$

但是口服药物的体内暴露程度还取决于它的口服生物利用度:

$$AUC = \frac{F_{oral} Dose_{oral}}{CL} \quad (31)$$

其中  $F_{oral}$  值由式 (18) 代入和  $F_H$  由式 (21) 代入,  $CL$  值由式 (12) 代入, 便求得只通过肝脏清除的口服药物的体内暴露程度:

$$AUC = \frac{F_{abs} F_G Dose_{oral}}{f_u CL_{u,int}} \quad (32)$$

应该注意口服给药后药物在体内的暴露程度与游离态分数和固有清除率呈反比, 而与滤过率无关。

比较式 (30) 和式 (32), 对于只通过肝脏清除的低滤过率的药物, 口服和静脉给药的剂量相同时, AUC 值相等, 除非  $F_{abs} F_G$  值较低。如果某种药物如扑热息痛的  $F_{abs} F_G \approx 1$ , 那么两种途径给药后的体内暴露程度就相等, 同时由于两者的  $f_u CL_{u,int}$  一致, 它们的体内暴露程度变化率也就相同。环孢素的肝脏首过效应较大, 其  $F_{abs} F_G$  值就很低 (图 4), 因而这种由肝脏清除且滤过率较低的药物在口服给药后其体内的暴露程度显著小于静脉注射。另外, 由于附加了  $F_{abs} F_G$  这个可变量, 我们预计这种药口服给药后暴露程度的差异性将大于静脉注射。

普萘洛尔是一种典型的具有高滤过率且几乎全部通过肝脏被清除的药物。虽然口服后也被其他内脏进行代谢, 但程度很低 ( $F_G \gg F_H$ )。此药在口服 (80mg) 后和静脉注射 (10mg) 后在体内的暴露程度的差异由图 5 可看出。比较式 (29) 和式 (32), 由于  $f_u CL_{u,int} > Q_H$ , 口服给药后的 AUC 将比静脉注射大。另外, 在图 5 中我们注意到, 口服给药时的个体差异要比静脉注射大得多, 这是由于肝脏血流的个体差异远小于个体间肝脏酶的特性清除的差异。

从药效学的角度考虑, 普遍认为药物的有效性和毒性都与药物游离态浓度有关, 间歇性 (非连续性) 给药时式 (1) 转化为

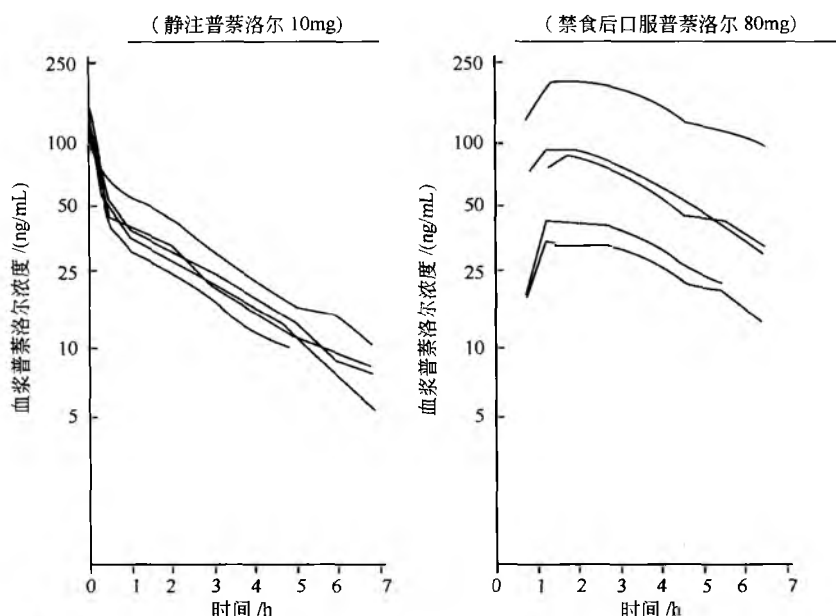


图5 普萘洛尔在静脉给药组(5名受试者, 10mg/人)和口服给药组(5名空腹受试者, 80mg/人)中的血药浓度。口服组中血药浓度的个体差异较大<sup>[43]</sup>

$$E = \frac{E_{\max} AUC_u^s}{AUC_{u,50}^s + AUC_u^s} \quad (33)$$

式中:  $AUC_{u,50}^s$  是指在一个用药周期内, 达到最大效应的50%时的游离态 AUC 值, 也就是说一定的给药剂量后所达到的疗效是与由暴露于药物的游离态浓度的程度而决定的, 而后者自然与游离态部分的多少有关。游离态暴露  $AUC_u$  与总的暴露 AUC 有下列关系:

$$AUC_u = AUC f_u (f_u \text{ 为游离分数}) \quad (34)$$

在口服给药且药物清除主要是通过肝脏的情况下, 游离态药物暴露与  $f_u$  无关。式(33)中的 AUC 可由式(32)代入, 得式(35):

$$AUC_u = \frac{F_{\text{abs}} F_G \text{Dose}_{\text{oral}}}{CL_{u,\text{int}}} \quad (35)$$

同样, 对于器官滤过率较小的静脉注射给药,  $AUC_u$  与  $f_u$  无关。将式(30)代入式(34), 得

$$AUC \approx \frac{\text{Dose}_{\text{iv}}}{CL_{u,\text{int}}} \quad (36)$$

而具有高滤过率的从肝脏消除的静脉注射给药,  $AUC_u$  受  $f_u$  的影响。

$$AUC \approx \frac{f_u \text{Dose}_{\text{iv}}}{Q_H} \quad (37)$$

如某种药物的肝清除率可忽略不计, 那么  $F_H = 1$ , 口服给药和静脉注射给药的  $AUC_u$  值为

$$AUC_u = \frac{f_u F_{\text{abs}} F_G \text{Dose}}{CL} \quad (38)$$

如药物主要通过肾脏清除, 那么

$$CL \approx \frac{Q_K f_u CL_{u,\text{int}}}{Q_K + f_u CL_{u,\text{int}}} \quad (39)$$

式中:  $Q_K$  为肾脏的血流量。将式(39)代入式(38)中, 得

$$AUC_u \approx \frac{F_{\text{abs}} F_G \text{Dose} (Q_K + f_u CL_{u,\text{int}})}{Q_K CL_{u,\text{int}}} \quad (40)$$

当上述药物在肾脏的滤过率较小时 ( $f_u CL_{u,\text{int}} \ll Q_K$ ), 式(40)便转化为

$$AUC_u = \frac{F_{\text{abs}} F_G \text{Dose}}{CL_{u,\text{int}}} \quad (41)$$

当上述药物在肾脏的滤过率较大时 ( $f_u CL_{u,\text{int}} \gg Q_K$ ), 式(40)便转化为

$$AUC_u = \frac{F_{\text{abs}} F_G \text{Dose} f_u}{Q_K} \quad (42)$$

从上述公式中我们得出在以下两种情况下  $AUC_u$  的大小及其药效是由  $f_u$  决定的: ①当静脉注射药物只通过肝脏而被清除, 并且它的器官滤过率较高时; ②当静脉注射或口服药物只通过肾脏而被清除, 并且它的器官滤过率较高时。由于大多数药物并不属于上述非常有限的两种情况, 因此由疾病或药物相互作用而引起的血浆蛋白结合的变化一般不影响其  $AUC_u$  值。

## 非线性药代动力学

由于多数药物在治疗剂量范围内表现为线性药代动力学特性, 即血药浓度随着给药剂量的加倍而加倍, 因此我们就能通过用药剂量来预测其药代动力学特性。

但在药物清除和肝脏首过效应中起作用的代谢酶或血浆结合蛋白呈饱和的情况下, 药物呈现非线性药代动力学特性, 这样便给药物治疗效果的预测带来困难, 并且出现副作用的可能性也增高。

### 1. 非线性药物清除率

由于当药物达到一定浓度时, 人体内代谢系统都将出



L

现饱和现象，因此式（5）中描述的药物代谢清除率可用 Michaelis-Menten 方程表示：

$$\text{代谢速度} = \frac{V_m C}{K_m + C} \quad (43)$$

由式（43）可得

$$CL = \frac{V_m}{K_m + C} \quad (44)$$

式中： $V_m$  代表最大反应（代谢）速度； $K_m$  为 Michaelis-Menten 常数。在线性动力学的情况下， $K_m \gg C$ ，清除率为  $V_m/K_m$ ；但是，当血药浓度与  $K_m$  值相近时，清除率的大小将取决于血药浓度的大小，当血药浓度上升到一定值时，代谢系统便达到饱和。在达到稳态浓度时，药物的输入速度（ $R_{in}$ ）相当于代谢速度，此时药物的血药浓度可通过将  $R_{in}$  代入式（43）而求得

$$C_{ss} = \frac{K_m R_{in}}{V_m - R_{in}} \quad (45)$$

具有饱和性代谢的药物包括苯妥英和水杨酸盐。由于苯妥英钠可产生强副作用，而且其  $V_m$  和  $K_m$  值的个体间差异很大，因此使用此药的同时需进行血药浓度的监控。苯妥英钠的治疗浓度范围为 10~20mg/L，比大部分人的  $K_m$  都要高，在此范围内药物剂量的微小变化就能引起血药浓度较大的改变。图 6 中的轨迹图反映了式（45）所描述的苯妥英  $V_m$ 、 $K_m$  和  $C_{ss}$  之间的关系。

人群的平均  $K_m$  和  $V_m$  值分别为 4mg/L 和 7mg/kg/d。图 6 已标出不同  $K_m$  和  $V_m$  值所出现的概率，其中最小圆所圈定的  $K_m$  和  $V_m$  值出现的概率为 50%，第二个圆上的  $K_m$  和  $V_m$  值出现概率为 75%，然后以此类推。通过图 6 我们可估计对特定患者的给药速度。另外特定患者的  $V_m$  和  $K_m$  值也可通过他的两个不同给药速度及其相对应的血药浓度来求得，从而进一步优化给药方案。

2. 可饱和的首过效应

通常口服给药后，药物吸收时会有非常高的药物浓度进入胃肠道和肝脏，肝脏内的药物浓度要比静脉注射后的大很多，也远远高于口服给药后消除相中经过肝脏的药物浓度。肝脏门静脉中的药物首过代谢浓度可以大于  $K_m$  值，即使此时周围血管中的药物浓度不超过  $K_m$ ，当用药剂量加大时，

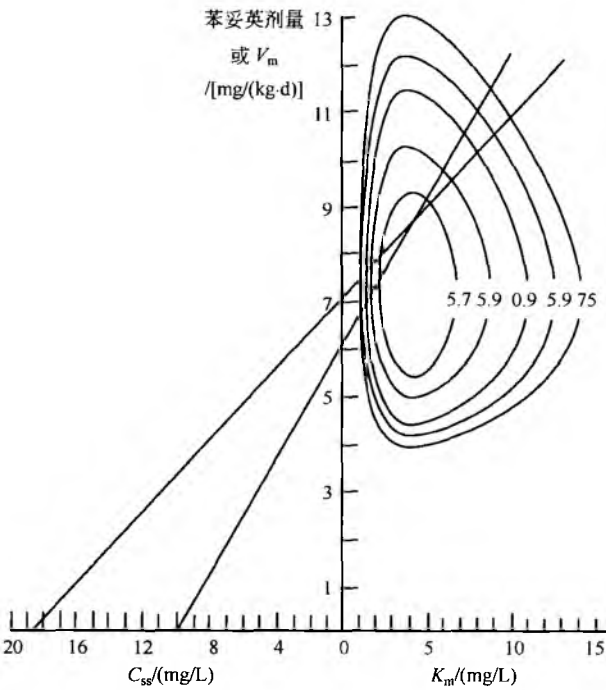


图 6 通过 Bayesian 反馈法估计苯妥英钠的给药剂量。图中偏心圆代表  $V_m$  和  $K_m$  值在此轨迹范围内的人群样本比例。通过连接  $C_{ss}$  测量值和苯妥英钠给药剂量（速度）作一直线，通过此直线与偏心圆的交点便能估计到概率最大  $V_m$  和  $K_m$  值，运用这些数值就能计算为达到不同血药浓度所需的给药速度<sup>[44,45]</sup>

由于首过效应的可饱和性，不经过肝脏首过代谢作用的药量也加大了，因此生物利用度得以提高。以氨苯酸（PABA）为例，如表 3 所示，PABA 的所有代谢和未代谢物都在 24h 后在尿液中排出，而其中代谢产物乙酰-PABA 所占的比例是随着剂量的大小和给药速度的快慢而改变的，口服剂量越大尿液中的代谢产物比例就越小。同时当口服和静脉给药的时间拉得越长，代谢产物的比例也会大大增高。在服用缓释制剂时，对于首过效应可饱和的药物来说，它们在肝脏门静脉的首过浓度低于同样剂量的一般口服制剂，因此这种缓释制剂的生物利用度相对一般口服制剂小很多。

表 3 PABA 及其乙酰化代谢物在尿液中的排出比例与给药方式和给药速度的关系<sup>[46]</sup>

途径	Na-PABA 的总剂量/g	24h 尿中的 PABA 总量占 24h 排泄剂量的百分比/%	尿中的乙酰-PABA 量占 PABA 总量的百分比/%
静脉推注	1	102	51
延长作用给药			
静脉滴注 270min	0.4	90	95
每隔半小时口服 10 个剂量	0.4	95	97
单剂量			
口服液	1	103	51
	2	103	47
	4	102	36
	8	102	30



## 给药方案设计时的稳态考虑

### 1. 给药速率

正如治疗高血压和糖尿病,许多治疗都需长期用药。在达到稳态时给药速率应等于药物的清除速率[式(5)和式(6)]

$$\frac{FDose}{\tau} = CLC_{ss,avg} = \quad (46)$$

式中:  $F$  为生物利用度;  $\tau$  为给药间隔;  $C_{ss,avg}$  为平均稳态血药浓度。另外,由于在用药间歇  $C_{ss,avg}$  等于  $AUC/\tau$ ,因此它也反映了药物在体内的暴露程度。如式(46)两边均乘以  $\tau$ ,并除以  $CL$  便得到式(29)。另外,在式(46)中,如已知  $C_{ss,avg}$ ,就可计算出  $CL/F$ 。在以下几种情况下,我们可通过测量血药浓度来帮助确定合适的用药方法:

- 在药物的治疗指数较低的情况下(如地高辛和茶碱);
- 没有任何药效学特征(如血压,一些副作用如抗胆碱药引起的口干等症状的出现等)可用作治疗终止的指征;
- 治疗剂量范围内,药物的动力学特性为非线性(如苯妥英钠);
- 治疗对象比较特殊(如新生儿、幼儿、孕妇或肾功能低下的患者)。

如图7所示,平均稳态浓度的大小主要是由给药速率来决定的,而不是给药的次数。例如,茶碱的用药方案可以是每24h一次给药1020mg或每8h一次给药340mg,两

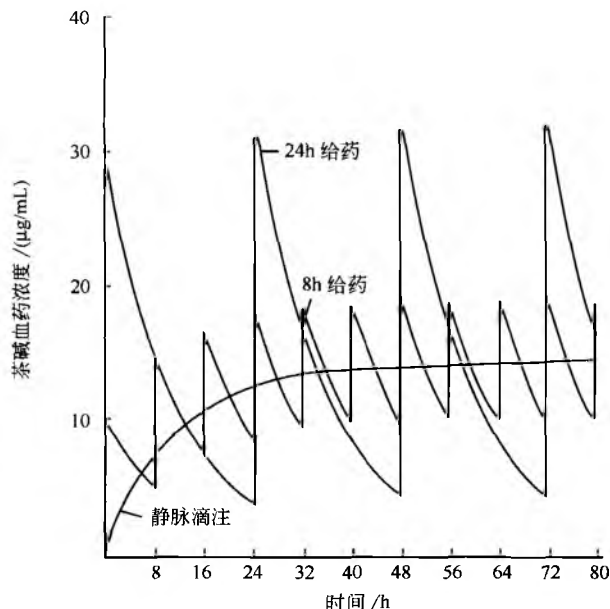


图7 当茶碱的稳态血药浓度保持在  $15\mu\text{g/mL}$  时,用药频率和血药浓度上下限之间的关系。图中的平滑上升曲线为以  $43.2\text{mg/h}$  进行静脉注射时药时曲线。每8小时给药的剂量为  $340\text{mg}$ ,每24h给药的剂量为  $1020\text{mg}$ 。这三种给药方案所达到的平均稳态血药浓度均为  $15\mu\text{g/mL}$  [47]

种方案最终所达到的平均血药浓度与  $43.2\text{mg/h}$  的恒定输液速率相同[17]。然而,血药浓度在平均值附近的波动幅度却受给药间隔长短的影响。对于治疗系数较低的药物来说,其给药间隔应短一些,以使血药浓度波动范围的上下限均保持在治疗浓度的范围内。

运用下列公式我们可求出给药间隔为  $\tau$  时的稳态浓度的上 ( $C_{ss,max}$ ) 下 ( $C_{ss,min}$ ) 限,在此我们假定药物的吸收速度远高于清除速度,并且消除相为一室模型,  $\lambda$  为药物消除的速率常数:

$$C_{ss,max} = \frac{FDose/V}{(1 - e^{-\lambda\tau})} \quad (47)$$

式中:  $FDose/V$  表示再次给药后所增加的血药浓度的量。因此,  $C_{ss,min}$  可以通过  $C_{ss,max}$  乘以在给药间隔的末期体内余留的药物分数来计算:

$$C_{ss,min} = C_{ss,max} e^{-\lambda\tau} \quad (48)$$

在达到稳态时,血药浓度的上下限之间的差为  $FDose/V$ ,因而在给药间歇被清除的药物量相当于给药量。

决定平均稳态浓度大小的因素包括生物利用度和清除率。最大浓度的高低还取决于分布容积,容积越小,这一上限浓度就越大。另外,血药浓度的波动范围取决于给药间隔相对于消除半衰期的长短。理论上给药间隔的长短最好等于消除半衰期,这样  $C_{ss,min}$  便为  $C_{ss,max}$  的 50%;但实际上,由于半衰期有过长或过短,因此 24h 内每隔 1 个半衰期给药会较为困难。通常给药间隔最短为 6h,最大为 24h 是比较可行的。如果药物的半衰期太短,我们就会考虑采用缓释制剂以得到较平缓的药时曲线并减少用药次数。由于依从性最终将决定疗效,因此在最大程度上优化长期用药的给药方案显得尤为重要。

### 2. 负荷剂量

在临床上需要很快产生药效时可给予负荷剂量。负荷剂量可单次给予,或在较短的时期内分几次给予,如每天一次。负荷剂量的大小取决于所要达到的稳态浓度、药物的表观分布容积和生物利用度,它应相当于达到稳态后体内药物的总量。

$$\text{负荷剂量} = C_{ss} V/F \quad (49)$$

当患者急需治疗,而等不了 3~4 个半衰期以达到所需药物浓度时,一般采用负荷剂量。给予负荷剂量的优点便是很快能达到稳态浓度,而它的缺点就是容易引起副作用,这种现象的出现是在负荷剂量导致的血药浓度过高或是个别患者特别敏感的情况下。然而在有些时候,采用给予负荷剂量是唯一的选择。例如,抗心律失常药在急性心肌梗死中就需采用负荷剂量。

## 个性化用药方案:个体差异和健康状态

临床医生在对某一患者首次用一种药时,往往只能根

## L

据一些普通的用药信息制定给药方案,如处方医生手册(PDR)或其他文献和经验,并视患者的健康状况而定。在此时,医生并不能准确地知道患者会对药物起何种药动学或药效学反应。所以为了提高疗效,就需要在治疗过程中测量相关的药效指标,如通过稀释剂量以避免一些副作用的产生,或测量血药浓度来监控药效。

随着我们越来越了解引起药动学和药效学个体差异的因素,近年来临床上越来越注重个性化用药。引起个体差异的因素主要包括患者之间基因的差异、年龄和健康状况的差异。某些疾病如心脏、肝和肾疾病可影响药物在体内的转运和清除,从而导致药物药代动力学特性的改变。

肾功能状态和年龄大小密切相关。20~30岁,肾小球的滤过率(GFR)为100~125mL/(min·70kg),而随着年龄的增大此速率将以每年1mL/min的速度递减。通常通过测量血清中的肌酐含量,计算肌酐的清除率来表示GFR,可以诊断疾病引起的肾功能下降。在肾功能较低时,用肌酐清除率会高估GFR<sup>[48]</sup>,因此目前用测量肌酐来检测肾衰已受到越来越多的质疑。即便如此,但肌酐测量现在仍被普遍使用。GFR值介于20~50mL/min,为中度肾衰;GFR值小于10mL/min,为重度肾衰。如某种药物的活性或毒性代谢产物主要由肾脏排出,那么就有必要根据肾功能状态来制定给药剂量。

代谢清除率受年龄的影响不像肾功能那样明显,它们在个体间的差异更为显著,这主要由于不同的个体基因和环境因素所造成的代谢能力差异所致。代谢能力包括了其中各种酶促反应的程度,而这些反应将受到年龄、肝脏疾病和基因差异的影响。对于肾病时的肾功能状态我们可用肌酐清除率来衡量,但是对于与药物代谢相关的肝功能损害程度目前还没有一个较好的衡量指标。

肝脏疾病是多种多样的,一般根据药物清除率的变化可分为急性和慢性两种。急性疾病一般对药物代谢清除率没有什么影响,而慢性疾病如肝硬化能很大程度上降低其代谢功能。另外,由于肝硬化情况下经过肝脏部分的毛细血管闭锁或绕过肝脏使得肝脏代谢酶与药物的接触程度下降,因而显著地提高了肝脏滤过率较高药物的生物利用度。不同药物的药代动力学特性受肝脏疾病的影响程度都所不同。在代谢过程中,药物的氧化过程与其葡萄糖醛酸等结合反应相比更能受肝脏疾病的影响。如苯二氮草类药物,其中去甲羟安定和氯羟安定两种药在肝脏内主要以葡萄糖醛酸结合的方式被代谢,因此对肝硬化的患者应优先选择用上述两种药而不是安定和氯氮草<sup>[49]</sup>。

心功能衰竭也是影响药物处置的一个重要因素。由它引起的低血液输出量和高外周阻力可导致外周器官如肾脏和肌肉的血流量减少,而增加心脏和大脑等中心器官的血流量。这样就减缓药物在全身的分布,增加中心器官的初

始血药浓度,增大出现副作用的可能性。另外,心衰可减少消化道的血流量,阻碍药物的吸收,但是上述情况对生物利用度的影响很少。最后,由于肝、肾的血流量减少,一些在这些器官中有高滤过率的药物的清除率也随之降低。

## 药物遗传学

20世纪开始,用于医学治疗的化学药品大幅度增加。过去几十年里这些药物的广泛使用,人们发现这些药物在疗效上存在着很大的个体差异,这些差异已被药代动力学研究所证实。与此同时,这种个体差异不仅限于疗效,而且还表现在其副作用发生的频率和程度上。任何一个药不是对所有患者都有疗效,同样标准治疗时它也可在某些患者中产生与药物相关的毒副作用,而其他患者不受影响。因此在优化治疗方案时必须首先认识到这种个体差异。过去几十年的大量证据表明,虽然年龄、营养状况、健康状况和环境等因素影响着药物的治疗效果,但药效在很大程度上取决于患者的遗传基因。药物遗传学主要就是研究造成药物反应个体差异的内在遗传因素,研究个体在相关遗传基因上的差异和药物反应在地理及人种之间的差异。因此药物遗传学的最终目的便是使疾病的治疗方法能因人而异,成为个体化药物治疗,并能对疗效有准确的估计。

遗传的基本单位是基因。基因是一种由碱基对构成的DNA序列,不同的DNA序列最终表达为不同的蛋白质。基因型是指生物的内在遗传组成,而表型指的是可观察到的这些基因的外在性状。个体的遗传特征可以是单基因也可以是多基因的,它取决于此遗传特征来自一个位置上的单个基因还是来自同一染色体上的多个位置基因。Allele是指相同基因的一种、两种或多种不同的形式,包含特定的遗传差异,在成对染色体上占据相应的位置。遗传多样性是指单基因遗传特征至少存在2个表型,其中每一个在人群中的出现率都大于1%。等位基因这个概念是指位于一对同源染色体上,位置相同,控制同一性状的一对基因。某个遗传特征的等位基因相同的个体或称为纯合子,而不同时(有显性和隐性组成)称杂合子。

人体中对外源物质进行代谢的系统主要为细胞色素P<sub>450</sub>单氧化酶系。这个酶系统包含有很多亚型,其中CYP2D6、CYP3A4/3A5、CYP1A2、CYP2E1、CYP2C9和CYP2C19的个体遗传差异在很多药物的代谢中都起了重要作用,而在药代动力学过程中,这些个体的遗传差异到目前为止也仅仅表现在对药物的代谢上。因为在年龄体重和健康状况相仿的人群中,药物的肾脏清除都比较相似。同样,个体遗传差异对药物吸收和分布的影响也并不明显。

表 4 药物代谢酶的基因多态性

代谢酶	表型差异	药物	药物反应
血浆中假胆碱酯酶	水解反应缓慢	司可林	长时间呼吸暂停
乙酰化转移酶	乙酰化反应加快或减慢	异烟肼 磺胺甲噁唑 普鲁卡因胺 柳氮磺吡啶 对氨基水杨酸 胍屈嗪	中毒性神经炎，红斑狼疮 (缓慢乙酰化)
硫嘌呤甲基转移酶 (TPMT)	TPMT 甲基化反应缺乏	6-巯嘌呤 巯鸟嘌呤 巯唑嘌呤	骨髓毒性，肝毒性
二氢尿嘧啶脱氢酶 乙醛脱氢酶	灭活反应减慢 代谢加速或减慢	5-氟尿嘧啶 乙醇	毒性增高 代谢减慢：脸发红 代谢加快：防止肝硬化
CYP2D6	代谢加速或减慢	异喹肼 鹰爪豆碱 降糖灵 去甲替林 dextromorphan 等	代谢减慢：毒性增加 代谢加快：抗药性
CYP2C9	代谢反应低下	甲苯磺丁脲 S-华法林 苯妥英钠 非甾体类抗炎药 丙咪嗪	药物反应增高或产生毒性
CYP2C19	羟基化反应减弱或加强	美芬妥英 环己巴比妥 噻咪哌唑 普罗苦亚呢	反应减弱：毒性增高 反应加强：抗药性

如表 4 所示，一些遗传基因的多样性在药物代谢中主要表现为个体间在药物氧化反应、S-甲基化和乙酰化反应上的差异。在先前的临床标准剂量给药时，在所谓的代谢功能低下的受试组中，这种多样性表现为药物毒副作用的产生。

如含有 CYP2D6 “缓慢”的等位基因纯合子的患者，表现为代谢功能低下，他们对多种药物如美托洛安、去甲替林和普罗帕酮的代谢和清除能力都较弱<sup>[51]</sup>，这些患者对标准剂量的药物也很容易产生毒副作用。这种隐性特征在亚洲人种中占 1%~2%，在美洲和非洲人中占 5%，而在高加索人种中占 6%~10%<sup>[52]</sup>。目前有 40 多种临床用药，特别是治疗心血管和心理病症的药物在体内的代谢是靠 CYP2D6 完成的<sup>[53,54]</sup>。同样，含有隐性等位基因 CYP2C19 纯合子的患者对奥美拉唑、安定、普萘洛尔、美芬妥英和阿米替林等药都很敏感。这种类型的人群在高加索人种中占 2%~5%，在亚洲人种中占 3%~23%。苯妥英钠、甲苯磺丁脲和华法林等药物主要是由 CYP2C9 进行代谢的<sup>[5]</sup>，在高加索人种中有 5% 的人体内 CYP2C9 对药物的代谢能力比正常人小 5 倍<sup>[6]</sup>。由于苯妥英钠和华法林的治疗指数很窄，用药患者在此药代谢方面的遗传差异所带来的后果就显得尤为突出。

由 N-乙酰化转移酶 (NAT2) 催化代谢的药物如异烟

肼和普鲁卡因胺等在体内的消除个体差异相当大。与抗结核药-异烟肼相关的外周神经病症早在 40 年前就出现了。这种体内药物乙酰化“缓慢”现象导致药物在体内的清除率下降，产生毒副作用的概率升高，而这种代谢特征的人群高加索人种中要占 40%~50%。

遗传的多样性被认为是引起药效差异的一个重要原因。研究人种间和个体间的基因差异可为药物的研发提供重要信息。由于现代化的分子生物学技术能很快地对患者的基因进行测序，从而具有重要的治疗意义。现在对新的个性化治疗方法的需求比以往更明显。在美国每年开出 30 亿张药方，其中就有 200 万个病历产生毒副作用，其中有一半人须住院治疗。在美国每年有 10 万人左右死于药物引起的副作用。因此根据个体基因信息进行早期预防将有效地抑制副作用的产生，对改善药物的治疗效果起到促进作用。

## 药代动力学在药物制剂中的作用

不同用途药物的制剂设计，需要偏重不同的药动学参数。如治疗头痛的阿司匹林，它需要快速吸收才能达到尽快减轻疼痛症状的效果，在此乙酰水杨酸需制成缓冲制剂或水溶性制剂，使得其吸收速率只取决于药物穿过胃肠道黏膜的速度。但是阿司匹林的另一用途是长期服药治疗风

湿性关节炎, 这种治疗用途就需要药物尽可能少地与胃黏膜接触, 所以制剂上多用肠衣片或颗粒。

如需长期用药, 那么为达到一定血药浓度, 药物的体内清除率和生物利用度大小将决定药物给药剂量的大小[式(45)]。如果某药物的清除率和分布容积决定了其消除半衰期较短, 但是治疗中药物的血药浓度需要大于一定的值(如抗心率失常的药物治疗), 那么给药间隔的大小就必须适中, 这就需要控释制剂。

但是, 理想的治疗还往往受制于药物本身的药代动力学特性, 如临床上医生多选择地高辛而不是洋地黄毒苷, 主要是因为地高辛的半衰期较短, 用药较为安全, 比较能控制药效。又如, 去甲羟安定在体内的吸收速度不理想, 因此帮助睡眠的作用起效较慢。因为这种缓慢的吸收速度是药物本身的药代动力学特性, 所以改变制剂并不能改善这一特性。由此可见, 制剂开发也是受药物本身药代动力学特性的制约。

对于具有高滤过率的口服药物来说, 如果它的低生物利用度是由于首过效应过高引起的, 那么它的生物利用度是无法通过改变制剂加以改善的。高滤过率药物能否通过口服给药就取决于其治疗浓度和由首过效应产生的有害成分浓度的比例, 并取决于药物浓度处于治疗浓度范围对成功治疗的必要性有多大。例如, 利多卡因和普萘洛尔的肝脏滤过率都较高, 它们的生物利用度分别小到35%和36%。但是普萘洛尔能口服给药而利多卡因却不能。因为利多卡因的治疗浓度和产生副作用的浓度很接近, 分别界于1.5~6mg/L和6~10mg/L, 而当它在体内的浓度小于治疗浓度时, 也会像在高浓度时一样引起心率失常。其次由于它的半衰期很短, 只有1.8h, 因此口服给药的频率也是不现实的。另外, 它首过效应的个体间差异(图4和图5)也给标准用药带来一定的困难。然而, 虽然普萘洛尔的半衰期也只有3.9h, 但它的治疗系数却较高, 因此其血药浓度降到治疗浓度范围以下并不会给患者带来不良后果, 所以在给药间歇中所出现的血药浓度的大幅波动不会太多的影响疗效。

所以用该方法药物的药代动力学特性, 特殊药物的特定要求, 包括需达到的血药浓度的上下限, 有效性与毒性对比, 以及个体的给药安排, 都可用作剂型开发的基础。

因此, 药代动力学的一些基本概念, 如药物的吸收速率和程度、肾清除程度与代谢程度比、滤过率高低, 以及药代动力学和药效学关系的研究将成为我们优化开发患者所需的药物的必要工具。

### 参考文献

- Holford, N. H. G.; Sheiner, L. B. Understanding the Dose-Effect Relationship; Clinical Application of Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Models. *Clin. Pharmacokinet.* 1981, 6, 429-453.
- Sheiner, L. B.; Stanski, D. R.; Vozeh, S.; Miller, R. D.; Ham, J. Simultaneous Modeling of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics; Application to d-Tubocurarine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1979, 25, 358-371.
- Paalzow, L. K.; Paalzow, G. H. M.; Tfelt-Hansen, P. Kinetics of Drug Action. *Pharmacokinetics. A Modern View*; Benet, L. Z., Levy, G., Ferraiolo, B. L., Eds.; Plenum Press; New York, 1984; 315-343.
- Rowland, M.; Benet, L. Z.; Graham, G. G. Clearance Concepts in Pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1973, 1, 123-136.
- Wilkinson, G. R.; Shand, D. G. Commentary: A Physiological Approach to Hepatic Drug Clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975, 18, 377-399.
- Benet, L. Z.; Oie, S.; Schwartz, J. B. Appendix II. Design and Optimization of Dosage Regimes; Pharmacokinetic Data. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th Ed.; Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, A. G., Eds.; McGraw-Hill; New York, 1996; 1707-1792.
- Pang, K. S.; Rowland, M. Hepatic Clearance of Drugs. 1. Theoretical Considerations of a Well-Stirred Model and a Parallel Tube Model. Influence of Hepatic Blood Flow, Plasma and Blood Cell Binding, and the Hepatocellular Enzymatic Activity on Hepatic Drug Clearance. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1977, 5, 625-653.
- Pang, K. S.; Rowland, M. Hepatic Clearance of Drugs. I. Theoretical Considerations of a "Well-Stirred" Model and a "Parallel Tube" Model. Influence of Hepatic Blood Flow, Plasma and Blood Cell Binding, and the Hepatocellular Enzymatic Activity on Hepatic Drug Clearance. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1977, 5, 655-683.
- Bass, L.; Robinson, P.; Bracken, A. J. Hepatic Elimination of Flowing Substrates: The Distributed Model. *J. Theor. Biol.* 1978, 72, 161-184.
- Forker, E. L.; Luxon, B. Hepatic Transport Kinetics and Plasma Disappearance Curves; Distributed Modeling Versus Conventional Approach. *Am. J. Physiol.* 1978, 235, E648-E660.
- Roberts, M. S.; Rowland, M. Hepatic Elimination—Dispersion Model. *J. Pharm. Sci.* 1985, 74, 585-587.
- Roberts, M. S.; Rowland, M. A Dispersion Model of Hepatic Elimination: 1. Formulation of the Model and Bolus Considerations. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1986, 14, 227-260.
- Roberts, M. S.; Rowland, M. A Dispersion Model of Hepatic Elimination: 2. Steady-State Considerations—Influence of Hepatic Blood Flow, Binding within Blood, and Hepatocellular Enzyme Activity. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1986, 14, 261-288.
- Roberts, M. S.; Rowland, M. A Dispersion Model of

- Hepatic Elimination; 3. Application to Metabolite Formation and Elimination Kinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1986, 14, 289–307.
15. Benet, L. Z.; Wu, C.; Hebert, M. F.; Wacher, V. J. Intestinal Drug Metabolism and Antitransport Processes; A Potential Paradigm Shift in Oral Drug Delivery. *J. Controlled Release* 1996, 39, 139–143.
  16. Hoener, B.; Benet, L. Z. Factors Influencing Drug Absorption and Drug Availability. *Modern Pharmaceutics*, 3rd Ed.; Banker, G. S., Rhodes, C. T., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 121–153.
  17. Benet, L. Z.; Kroetz, D. L.; Sheiner, L. B. Pharmacokinetics; The Dynamics of Drug Absorption, Distribution and Elimination. *Goodman and Gilman's The Pharmacologic Basis of Therapeutics*, 9th Ed.; Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, A. G., Eds.; McGraw-Hill: New York, 1996; 3–27.
  18. Wacher, V. J.; Silverman, J. A.; Zhang, Y.; Benet, L. Z. Role of P-Glycoprotein and Cytochrome P450 3A In Limiting Oral Absorption of Peptides and Peptidomimetics. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 1322–1330.
  19. Paine, M. F.; Khalighi, M.; Fisher, J. M.; Shen, D. D.; Kunze, K. L.; Marsh, J. D.; Thummel, K. E. Characterization of Interintestinal and Intraintestinal Variations in Human CYP3A-Dependent Metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, 283, 1552–1562.
  20. Watkins, P. B.; Wrighton, S. A.; Schuetz, E. G.; Molowa, D. T.; Guzelian, P. S. Identification of Glucocorticoid-Inducible Cytochromes P450 in the Intestinal Mucosa of Rats and Man. *J. Clin. Invest.* 1987, 80, 1029–1036.
  21. Thiebaut, F.; Tsuruo, T.; Hamada, H.; Gottesman, M. M.; Pastan, I.; Willingham, M. C. Cellular Localization of the Multidrug-Resistance Gene Product P-Glycoprotein in Normal Human Tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 7735–7738.
  22. Borst, P.; Schinkel, A. H.; Smit, J. J. M.; Wagenaar, E.; Van Deemter, L.; Smith, A. J.; Eijdem, E. W. M.; Baas, G.; Zaman, G. J. R. Classical and Novel Forms of Multidrug Resistance and the Physiological Functions of P-Glycoprotein in Mammals. *Pharmacol. Therap.* 1993, 60, 289–299.
  23. Fojo, A. T.; Ueda, K.; Slamon, D. J.; Poplack, D. G.; Gottesman, M. M.; Pastan, M. M. Expression of a Multidrug-Resistance Gene in Human Tumors and Tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 265–269.
  24. Wacher, V. J.; Wu, C.-Y.; Benet, L. Z. Overlapping Substrate Specificities and Tissue Distribution of Cytochrome P450 3A and P-Glycoprotein; Implications for Drug Delivery and Cancer Chemotherapy. *Mol. Carcin.* 1995, 13, 129–134.
  25. Wacher, V. J.; Salphati, L.; Benet, L. Z. Active Secretion and Enterocytic Drug Metabolism Barriers to Drug Absorption. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1996, 20, 99–112.
  26. Schuetz, E. G.; Schuetz, J. D.; Strom, S. C.; Thompson, M.; Fisher, R. A.; Molowa, D. T.; Li, D.; Guzelian, P. S. Regulation of Human Liver Cytochromes P-450 in Family 3A Induction in Primary Cultures of Rat, Rabbit and Human Hepatocytes. *Hepatology* 1993, 18, 1254–1262.
  27. Schuetz, E. G.; Beck, W. T.; Schuetz, J. D. Modulators and Substrates of P-Glycoprotein and Cytochrome P450 3A Coordinately Upregulate these Proteins in Human Colon Carcinomas. *Mol. Pharmacol.* 1996, 49, 311–318.
  28. McKinnon, R. A.; Burgess, W. M.; Hall, P. d. I. M.; Roberts-Thomson, S. J.; Gonzalez, F. J.; McManus, M. E. Characterization of CYP3A Gene Subfamily Expression in Human Gastrointestinal Tissues. *Gut* 1995, 36, 259–267.
  29. Lown, K. S.; Bailey, D. G.; Fontana, R. J.; Janardan, S. K.; Adair, C. H.; Fortlage, L. A.; Brown, M. B.; Guo, W.; B, W. P. Grapefruit Juice Increases Felodipine Oral Availability in Humans by Decreasing Intestinal CYP3A Protein Expression. *J. Clin. Invest.* 1997, 99, 2545–2553.
  30. Lown, K. S.; Mayo, R. R.; Leichtman, A. B.; Hsiao, H. L.; Turgeon, D. K.; Schmiedlin-Ren, P.; Rossi, S. J.; Brown, M.; Guo, W.; Benet, L. Z.; Watkins, P. B. Role of Intestinal P-Glycoprotein (MDR1) in Interpatient Variation in the Oral Bioavailability of Cyclosporin A. *Clin. Pharm. Ther.* 1997, 62, 248–260.
  31. Wu, C.; Benet, L. Z.; Hebert, M. F.; Gupta, S. K.; Rowland, M.; Gomez, D. Y.; Wacher, V. J. Differentiation of Absorption and First-Pass Gut and Hepatic Metabolism in Humans; Studies with Cyclosporine. *Clin. Pharm. Ther.* 1995, 58, 492–497.
  32. Benet, L. Z.; Galeazzi, R. L. Noncompartmental Determination of the Steady-State Volume of Distribution. *J. Pharm. Sci.* 1979, 68, 1971–1974.
  33. Wagner, J. G. Linear Pharmacokinetic Equations Allowing Direct Calculation of Many Needed Pharmacokinetic Parameters from the Coefficients and Exponents of Polyexponential Equations which have been Fitted to the Data. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1976, 4, 443–467.
  34. Aziz, N. S.; Gambertoglio, J. G.; Lin, E. T.; Grausz, H.; Benet, L. Z. Pharmacokinetics of Cefamandole Using a HPLC Assay. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1978, 6, 153–164.

L

35. Gambertoglio, J. G.; Aziz, N. S.; Lin, E. T.; Grausz, H.; Naughton, J. L.; Benet, L. Z. Cefamandole Kinetics in Uremic Patients Undergoing Hemodialysis. *Clin. Pharm. Ther.* 1979, 26, 592—599.
36. Lin, J. H. Species Similarities and Differences in Pharmacokinetics. *Drug Metab. Disposition* 1995, 23, 1008—1021.
37. Zini, R.; D'Athis, P.; Barre, J.; Tillement, J. P. Binding of Indomethacin to Human Serum Albumin: Its Non-Displacement by Various Agents, Influence of Free Fatty Acid and the Unexpected Effect of Indomethacin on Warfarin. *Biochem. Pharmacol.* 1979, 28, 2661—2665.
38. Vesell, E. S.; Passananti, G. T.; Johnson, A. Q. Failure of Indomethacin and Warfarin to Interact in Normal Human Volunteers. *J. Clin. Pharmacokinet.* 1975, 15, 486—495.
39. Winter, M. E. *Basic Clinical Pharmacokinetics*, 3rd Ed.; Applied Therapeutics, Inc.: Vancouver, WA, 1994; 13—22.
40. Rowland, M.; Tozer, T. N. *Distribution. Clinical Pharmacokinetics Concepts and Applications*, 3rd Ed.; Williams & Wilkins: Baltimore, MD, 1995; 151.
41. Tozer, T. N. Implications of Altered Plasma Protein Binding in Disease States. *Pharmacokinetic Basis for Drug Treatment*; Benet, L. Z., Massoud, N., Gambertoglio, J. G., Eds.; Raven Press: New York, 1984; 173—193.
42. Pacifici, G. M.; Viani, A. Methods of Determining Plasma and Tissue Binding of Drugs: Pharmacokinetic Consequences. *Clin. Pharmacokinet.* 1994, 23, 449—468.
43. Shand, D. G.; Nuckolls, E. M.; Oates, J. A. Plasma Propranolol Levels in Adults with Observations in Four Children. *Clin. Pharm. Ther.* 1970, 11, 112—120.
44. Vozech, S.; Muir, K. T.; Sheiner, L. B.; Follath, F. Predicting Individual Phenytoin Dosage. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1980, 9, 131—146.
45. Winter, M. E.; Tozer, T. N. Phenytoin. *Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring*, 2nd Ed.; Evans, W. E., Schentag, J. J., Jusko, W. J., Eds.; Applied Therapeutics, Inc.: Vancouver, WA, 1986; 493—539.
46. Drucker, M. M.; Blondheim, S. H.; Wislicki, L. Factors Affecting Acetylation In-Vivo of Para-Aminobenzoic Acid by Human Subjects. *Clin. Sci.* 1964, 27, 133—141.
47. Benet, L. Z. *Pharmacokinetics: I. Absorption, Distribution and Excretion. Basic and Clinical Pharmacology*, 7th Ed.; Katzung, B. G., Ed.; Lange Medical Publications: Stamford CT, 1995; 31.
48. Bauer, J. H.; Brooks, C. S.; Burch, R. N. Clinical Appraisal of Creatinine Clearance as a Measurement of Glomerular Filtration Rate. *Amer. J. Kidney Dis.* 1982, 2, 337—347.
49. Wilkinson, G. R.; Branch, R. A. Effects of Hepatic Disease on Clinical Pharmacokinetics. *Pharmacokinetic Basis for Drug Treatment*; Benet, L. Z., Massoud, N., Gambertoglio, J. G., Eds.; Raven Press: New York, 1984; 49—61.
50. Benowitz, N. L. Effects of Cardiac Disease on Pharmacokinetics: Pathological Considerations. *Pharmacokinetic Basis for Drug Treatment*; Benet, L. Z., Massoud, N., Gambertoglio, J. G., Eds.; Raven Press: New York, 1984; 89—103.
51. Touw, D. J. Clinical Implications of Genetic Polymorphisms and Drug Interactions Mediated by Cytochrome P450 Enzymes. *Drug Metab. Drug Interact.* 1997, 14, 55—82.
52. Evans, D. A. Genetic Factors in Drug Therapy. *Scientific Basis Med. Ann. Rev.* 1969, 16, 166—182.
53. Buchert, E.; Woosley, R. L. Clinical Implications of Variable Antiarrhythmic Drug Metabolism. *Pharmacogenetics* 1992, 2, 2—11.
54. Dahl, A. K.; Bertilsson, L. Genetically Variable Metabolism of Antidepressants and Neuroleptic Drugs in Man. *Pharmacogenetics* 1993, 3, 61—70.
55. Daly, A. K. Molecular Basis of Polymorphic Drug Metabolism. *J. Mol. Med.* 1995, 73, 539—553.
56. Gonzales, F. J. Pharmacogenetic Phenytyping and Genotyping. Present Status and Future Potential. *Clin. Pharmacokinet.* 1994, 26, 59—70.

(陈桂良 译)

# 索引

## A

阿拉伯胶 288, 291, 361, 755  
阿司帕坦 787, 1487, 2160  
阿司匹林 1009  
安瓿 640, 2608  
安培测定法 1871  
安全性评价 2254  
安装确认 620, 1233, 2425  
氨基葡萄糖 1386  
氨基酸结合反应 1835  
氨基乙酸 365  
凹坑腐蚀 2558  
螯合剂 362, 2608  
奥氏成熟 1132, 1135  
奥氏体不锈钢 2562

## B

巴氏灭活法 2617  
巴西棕榈蜡 862  
靶向给药 79, 1996  
靶向释放制剂 2018  
白蛋白 365  
版权 2627  
半刚性容器 2608  
半固体制剂 1, 292, 1124, 2122  
半胱氨酸 363, 2608  
半乳甘露聚糖 756  
半衰期 901  
包合技术 550  
包合物 551, 2021  
包糖衣 2264  
包衣 862, 918, 1488, 2516  
包衣锅 763  
包衣锅包衣法 1421  
包衣片剂 642  
包衣丸剂 642  
包衣微丸 289  
包装材料 2464  
胞饮 1258, 1865  
饱和弹性体 2466

保湿剂 292  
背向散射电子 2500  
被动靶向 2348  
被动扩散 1257  
被动转运 1864  
本体降解 2674  
苯丙氨酸 1806  
苯酚 2608  
苯甲醇 213, 363, 2160, 2608  
苯甲酸 292, 1130  
苯醌扭体分析 147  
苯氧乙醇 292, 1130  
崩解 1261, 2337  
崩解剂 38, 287, 320, 1012, 1022, 1039, 2507  
崩塌效应 442  
鼻黏膜 1957  
鼻腔给药 172, 666, 1861, 1957, 1961  
鼻用溶液剂 654  
比湿度 414  
吡哆酸, 1516, 1519  
蓖麻油 2608  
壁喷流池 1873  
编码混合合成 1936  
变更控制 914  
变态反应 1727  
标准操作规程 282  
表观分布容积 900  
表观分配系数 2014  
表面等离子共振 932  
表面活性剂 135, 292, 766, 836, 838, 919, 1129, 1681, 1868, 2146, 2608  
表面活性剂凝胶 2119  
表面溶蚀 2675, 2677  
表面张力 554, 1681  
表面自由能 1681  
冰点降低法 554, 2382  
丙氨酸 365  
丙二醇 213, 230, 291, 1062, 1131, 1459, 2608

丙二酰硫脲法 2653  
丙交酯-乙交酯共聚物 758, 994  
丙三醇 290  
丙烯酸 2004  
病毒灭活 2613  
病毒验证实验 2615  
病例报告表 890, 891  
玻璃 1646, 2094  
玻璃化转变 767, 883, 2673  
玻璃混悬液 428  
玻璃溶液 428  
玻璃纤维材料 518  
泊洛沙姆 376, 985, 1130  
薄层池 1873  
薄层色谱 554, 1150  
薄膜包衣 762, 2265, 2450  
薄膜挤出 611  
薄膜渗透性 766  
不饱和的弹性体 2466  
不分流进样 1174  
不均一成核 683  
不可见颗粒 2091  
不可逆的药理应答 1780  
不锈钢 2562, 2568

## C

参比电极 1870  
残留溶剂 355  
操作认证 853  
草药 1381, 2244  
草药疗法 2244  
层流 25  
层流净化台 23  
层流设备 23  
层流生物安全工作柜 24  
搽剂 291, 647  
差热分析仪 880  
差示扫描量热法 865, 880, 1071, 1715, 2117  
差示扫描量热仪 880

- 拆分 2291  
 掺入 6  
 产品处方设计专家系统 2359  
 产品研发 1673  
 铲角 436, 438  
 长期稳定性 1067  
 肠代谢 899  
 肠道给药 1862  
 肠道外给药 1860  
 肠肝循环 1261  
 肠腔代谢 2015  
 肠清除 899  
 肠溶包衣 663, 2019  
 肠溶材料 764  
 肠溶衣 2004  
 肠溶制剂 645, 1124  
 场发射扫描透射电子显微镜 2501  
 超奥氏体的不锈钢 2563  
 超级崩解剂 38  
 超临界流体 392, 426, 1246  
 超滤 517, 1752  
 超声波均质机 739  
 超声波喷雾器 2279  
 超声波雾化器 51  
 超声促渗 190, 704  
 超声激活型给药系统 1993  
 超声振动电位 2684  
 超速离心法 671  
 潮解 1711  
 沉淀滴定 99  
 沉淀剂 652  
 沉降技术 744  
 承包生产 58  
 迟发型过敏反应 1972  
 充气堆密度 437  
 冲洗剂 654  
 虫胶 290  
 初级代谢产物 1794  
 储存期 1065  
 处方前研究 1018  
 处方设计 2359  
 处方药 66, 264, 544  
 处方优化 2664  
 触变流 588  
 触变性 2443  
 传热机制 410  
 创伤敷料 1218, 1346  
 吹瓶-灌装-封口 1444, 1476  
 吹塑成形 611  
 纯化水 2089  
 磁激活型给药系统 1993  
 雌激素 2651  
 次生代谢产物 1794  
 刺激试验 151, 1738  
 促进扩散 1258  
 促销 66  
 促氧化剂 2648  
 醋剂 656  
 醋酸纤维素 518  
 D  
 大容量注射剂 2606  
 代谢 802  
 代谢物 73  
 代谢抑制剂 2021  
 单变性 1075, 1763  
 单氟磷酸钠 1592  
 单光子发射计算机断层成像术 254  
 单剂量给药装置 1960  
 单颗粒光学测定器 143  
 单克隆抗体 79, 1238, 1240, 1242, 2343  
 单螺杆挤出机 610  
 单元操作 410, 2176, 2198  
 单轴剪切测试仪 442  
 胆固醇 861  
 胆酸 861  
 弹性模量 2441  
 弹性体 2464, 2565  
 弹性体评价 2470  
 蛋白结合 901  
 蛋白稳定剂 2093  
 蛋白质 171, 968, 1356  
 蛋白质多肽 200  
 蛋白质学 494  
 蛋白质组学 1238  
 氮磷检测器 1173  
 氮酮 1459, 1868, 1970  
 道尔顿定律 2375  
 等价制剂 1821  
 等张性 2092  
 低黏附衬垫 1221  
 低温变性 829  
 低温火焰光度法 593  
 低压供电 2553  
 滴鼻剂 219, 291, 1958  
 滴定 99  
 滴耳剂 291, 640  
 滴剂 644  
 缔合胶体 670  
 点样 1151  
 电池电位 2560  
 电磁辐射 506  
 电导滴定 106  
 电导检测器 1167  
 电感耦合等离子体 492  
 电化学 1704  
 电化学腐蚀 2558  
 电化学检测 1870  
 电化学检测器 1167  
 电化学免疫测定 1877  
 电化学免疫分析法 956  
 电解电导检测器 1175  
 电力负载 2552  
 电流滴定 108  
 电脉冲 188  
 电抛光 2566, 2569  
 电迁移 869  
 电渗 869  
 电渗析 188  
 电位 117  
 电位测定技术 1870  
 电位滴定, 105, 554  
 电位分析 117  
 电位免疫测定法 1877  
 电泳法 554  
 电泳光散射 2684  
 电致孔 190, 869  
 电子捕获 251  
 电子捕获检测器 1173  
 电子记录 618, 1454  
 电子脉冲计数法 671  
 电子签名 618, 1454  
 电子数据 618  
 电子顺磁共振技术 274  
 电子文档 1449  
 电子显微镜 2500  
 电子效应 555  
 电子制药信息报道 2132  
 淀粉 111, 288, 289, 435, 983, 2338, 2420, 2672  
 淀粉浆 288  
 淀粉衍生物 114  
 丁基胶 2465  
 丁基羟基茴香醚 2608  
 订药制剂 225  
 酞剂 291, 655, 2250



- 顶空分析 1178  
顶空氧分析 1702  
定量阀 136  
定量结构-毒性关系 1939  
定量气雾剂 293  
定量溶液吸入器 2284  
定量吸入剂 133, 335, 388, 1686, 2235, 2276  
定量吸入器 2280  
定量限 1169  
定位给药系统 2039  
锭剂 129, 289, 648, 656, 1471  
动脉内给药 1860  
动态纯竞争 1603  
动态淬灭 477  
动态光散射法 671  
动态黏度 2441  
动态热机械法 1074  
动物模型 146, 2080  
冻干 320, 827, 2522  
冻干保护剂 836, 840  
冻干成形剂 365  
冻胶 859, 976, 1144  
毒理基因组学 1938  
毒性反应 1727  
断层成像仪 254  
堆密度 437, 2267  
对苯甲酸酯和氯甲酚 1130  
对二氧环己酮和聚丙烯二酯共聚物 758  
对二氧环己酮和聚对苯二羟乙酸乙二醇共聚物 758  
对二氧环己酮和吗啉-2,5-二酮共聚物 758  
对羟基苯甲酸酯 292, 363  
对映体过量 1289  
对映异构体 1082, 2291  
钝化 2566, 2570  
多层片 289  
多级液体撞击器 53  
多晶型 698, 838, 883, 1019, 1075, 1262, 1763, 1865  
多聚乙酰化合物 1797  
多克隆抗体 2343  
多孔包衣锅 763  
多态现象 1763  
多肽 171, 968, 1356  
多肽蛋白质 1374, 2672  
多糖 2672  
多药治疗 812
- ### E
- 儿茶酚 2651  
儿科用药 207, 293  
耳部给药 219  
耳用制剂 224, 1062  
二次电子 2500  
二次电子显微镜 2501  
二次干燥 833  
二丁基羟基甲苯 362, 1131  
二甲基亚砷 1062, 1459  
二甲基乙酰胺 2608  
二甲基乙酰胺 1062  
二甲醚 134  
二硫丙醇 275  
二氧化硅 435  
二氧化钛 290, 765
- ### F
- 发光淬灭 477  
发射光谱法 492  
法拉第技术 1871  
翻滚 233  
翻转混合器 232  
翻转熔融制粒 781  
凡士林 1, 292  
反触变性 2443  
反回扣 71  
反基因疫苗 2310  
反馈调节型给药系统 1995  
反渗透 517  
反相色谱 1164  
反絮凝剂 589  
反义 1238, 1240  
反义探针 1435  
芳香剂 292  
防腐 1470  
防腐剂 10, 291, 292, 363, 732, 788, 836, 919, 1130, 1659, 2092, 2608  
防腐剂效力测试 16, 18  
防黏剂 320  
仿制药 245, 2639  
放射化学纯度 255  
放射免疫测定 256  
放射免疫分析 1251  
放射性标记 2235  
放射性标记的免疫测定 950  
放射性核素纯度 255  
放射性化学分析 249  
放射性衰变 250  
放射性同位素 249, 1795  
放射性药物 255, 1466  
飞行时间粒径分析仪 747  
非处方药 66, 259, 385, 544  
非环糊精 272  
非计划性偏差 915  
非均相电流免疫测定法 1877  
非临床研究质量管理规范 280  
非牛顿流体 2442  
非色散型光谱仪 454  
非线性药代动力学 903  
非线性药物清除率 903  
肺部沉积试验 2238  
肺部给药 138, 173, 198, 335, 388, 399, 666, 1963, 2271  
分布 801  
分层 236, 1132  
分剂量散剂 652  
分离强度 239  
分流进样 1174  
分配系数 297  
分散程序 1006  
分析方法的定量限 305  
分析方法的范围 305  
分析方法的检测限 305  
分析方法的精密性 305  
分析方法的耐用性 306  
分析方法的线性 305  
分析方法的验证 303  
分析方法的准确度 305  
分子力学 626  
分子模型 623  
分子印迹高分子 932  
分子蒸馏 2200  
粉剂 229, 652  
粉末剂 1471  
粉末流动性 331  
粉末取样 338  
粉末上药法 2454  
粉末填充 2334  
粉末吸入装置 401  
粉末制剂 333  
粉碎 2208  
粉体 432  
粉体流变仪 442  
风化 1711

缝隙腐蚀 2558  
 敷剂 640  
 敷料 1221  
 伏安法 1871  
 伏安法分析 596  
 伏安检测法 1875  
 氟橡胶 2465  
 辐射灭菌 998, 2212  
 腐蚀 2557  
 负荷剂量 905, 1779  
 复合 272  
 副作用 1727  
 赋形剂 320, 355, 360, 2156  
 赋形剂的安全性 355, 375  
 傅里叶转换红外光谱 454, 1717  
 富马酸 1009  
 腹腔内给药 1862

## G

改进气体环境包装法 1702  
 盖仑制剂 638  
 干法制粒 1011, 2486  
 干法制粒压片 1040  
 干粉气雾剂 1966  
 干粉吸入剂 293, 322, 335, 388, 399, 2235  
 干固体填充 2336  
 干凝胶敷料 1223  
 干扰素 1242  
 干热灭菌法 405, 2212  
 干糖浆 2512  
 干燥 410, 830, 2204  
 干燥器 2206  
 干燥稳定剂 840  
 甘氨酸 836  
 甘氨酸碳酸钠 1010  
 甘草单铵盐 1487  
 甘露醇 288, 289, 365, 828, 836, 1487, 2420  
 甘油 1062, 1131, 1487, 2608  
 甘油单硬脂酸 292  
 甘油剂 646  
 甘油凝胶剂 646  
 甘油酯 862  
 肝清除 1755  
 感温型水凝胶 1349  
 刚性 980  
 高岭土 287  
 高通量筛选 1238, 1241, 1937

高通量有机合成 1937  
 高温火焰光度法 595  
 高效空气粒子过滤器 161  
 高效粒子空气过程器 23  
 高效液相色谱 74, 554, 1162, 1248  
 高压供电 2554  
 高压均质机 735  
 膏剂 651  
 隔离装置 2229  
 给药方案 905, 1777, 1783  
 工序能力 1394  
 工序实现指数 1398  
 工序位移指数 1398  
 工序中央指数 1398  
 工艺放大 847  
 工艺放大和产品批准后的变更 422, 1266  
 工艺验证 2424  
 工艺优化 2662  
 供电和分支电路的规划 2554  
 共沉淀 426  
 共聚物 1981, 2672  
 共溶剂 290  
 共熔体 860  
 共熔物 426  
 共蒸发物 426  
 枸橼酸 1008  
 构象多态现象 1764  
 构象异构体 2290  
 构象异构现象 2294  
 构效定量关系 630  
 孤儿受体 1945, 1950  
 谷氨酸钠 1487  
 谷胱甘肽结合反应 1834  
 骨架系统 289  
 固定相 1151, 1163, 1176  
 固态检测仪 252  
 固态溶液 427, 860  
 固体分散体 426, 860, 864, 1687  
 固体干燥工艺 415  
 固体剂型 432, 2121  
 固体溶液剂 1866  
 固体脂质纳米粒 294  
 固体制剂 287, 762, 779  
 寡聚核苷酸 1431  
 寡聚体 1431, 1433  
 管制容器 1653  
 惯性撞击分析器 142  
 灌肠剂 291, 644, 2078

灌洗剂 643  
 光电二极管阵列检测器 1167  
 光毒性试验 1744  
 光度滴定 109  
 光解作用 1771  
 光敏化 1771  
 光敏剂 1771  
 光谱带宽 511  
 光谱法 492  
 光谱分辨率 511  
 光谱分析 450, 461, 466, 475, 488, 494  
 光吸收 506  
 光学异构体 2291  
 光致电离检测器 1175  
 光子校正光谱 748  
 广告 66, 266  
 归一化法 1178  
 硅胶 2465  
 硅酸镁锂 292  
 硅酸镁铝 288, 292  
 硅酮敷料 1225  
 硅橡胶 2051  
 癸二酸二丁酯 765  
 癸二酸和二-(4-羟基苯甲酸)-1, 3-丙烷的共聚酸酐 759  
 4-癸基喹烷-2-酮 1970  
 1-[2-(癸硫基)乙基]吡咯烷-2-酮 1970  
 滚压法 2486  
 滚压机 2489  
 滚压制粒 2486  
 国际协调会议 1065, 1636  
 国际药典 1277  
 国际药学文摘 2132  
 国家处方集 385  
 果胶 757, 983  
 果糖 1487  
 过饱和度 679, 717  
 过程控制 913, 2550  
 过孔流动 436  
 过滤 1479, 2202  
 过滤灭菌 1669  
 过滤器 24, 517, 520, 2203  
 过敏反应 1727  
 过氧化 2646

## H

海藻酸 288, 756, 982

- 海藻酸钙敷料 1223  
 海藻酸钠 288, 292  
 海藻酸盐 2672  
 海藻糖 365, 840  
 氮离子化检测器 1175  
 含漱液 291  
 焊接 2565, 2570  
 合并 1132  
 合剂 648  
 核磁共振 275, 554, 630, 1717, 1795, 2528  
 核磁共振光谱学 1767  
 核苷 1431  
 核苷酸 1431, 1816  
 核酸适体 931  
 核心流 434  
 黑升麻 1384  
 亨利定律 2376  
 红铁粉 2567  
 红外光谱法 450, 865  
 槲皮苷 2651  
 糊剂 5, 292, 648, 1473  
 琥珀酸 861  
 互联网 69, 2134, 2548  
 互认程序 1006  
 花生油 2608  
 滑动角 436  
 滑石粉 287, 289, 435, 765  
 滑移 233  
 化学发光 932  
 化学发光测量法 2653  
 化学发光免疫分析 956, 1251, 1252  
 化学放大 1877  
 化学降解 2670  
 化学位移 2529  
 化学文摘 2132  
 化妆品 544, 547, 2122  
 还原 1832  
 环糊精 376, 550, 562, 1459, 2161, 2301  
 $\alpha$ -环糊精 552  
 $\beta$ -环糊精 552, 559, 755  
 $\gamma$ -环糊精 552  
 环-模具颗粒磨 612  
 环氧乙烷-环氧丙烷共聚物 754  
 环氧乙烷灭菌 2212  
 缓冲剂 364, 788, 2093  
 缓冲盐 291  
 缓释制剂 289, 429, 864, 1123, 1124  
 黄耆糖 755  
 黄原胶 756  
 磺化反应 1834  
 磺酸环糊精 560  
 回顾性验证 2424  
 混合 233, 331, 391, 700, 1036, 2209  
 混合机 2211  
 混悬剂 291, 583, 654, 721, 1472, 1685, 1866, 2122, 2266, 2450, 2688  
 混悬注射剂 2090  
 活度系数 2136  
 活化分析 255  
 活化极化 2560  
 活化剂 2466  
 活性药物成分 2431  
 火棉胶 642  
 火焰法 488  
 火焰光度法 593  
 火焰光度检测器 1175  
 火焰离子化检测器 1173
- J
- 机械分散装置 1958  
 机械力激活型给药系统 1992  
 肌肉给药 1861  
 肌肉注射 208, 217, 1059, 1256, 1301  
 基因 1434, 1795  
 基因缺陷型疫苗 2309  
 基因学 494  
 基因治疗 1238, 1240  
 基因组 1431  
 基因组学 1240, 1939  
 基质效应 490  
 激光散射 2117  
 激光衍射法 53  
 激活调控型给药系统 1989  
 激素 1241  
 极谱分析 596  
 即可用胶塞 (RtU) 2468  
 急性毒理 149  
 急性毒性试验 1738  
 集中程序 1006  
 几何异构体 2293  
 挤出 606  
 挤出滚圆法 2457  
 挤压包衣技术 2040  
 挤压喷雾剂 1958  
 计划性偏差 915  
 计算化学 624  
 计算机 75, 283, 1453, 1921, 2359, 2543  
 计算机断层摄影术 2235  
 计算机辅助药物设计 623, 630  
 计算机系统的验证 618  
 计算机系统验证 895  
 技术转让计划与报告 915  
 技术转移 856, 2427  
 技术转化 2434  
 剂量的确定 1777  
 剂量-应答关系 1780  
 剂型设计 661  
 加压包衣片剂 2040  
 颊和舌下途径给药 2033  
 甲基化反应 1835  
 甲基化环糊精 560  
 甲基纤维素 292, 755, 984, 1130  
 间接的药理应答 1780  
 检测限 1169  
 剪切变稠 2442  
 剪切变稀 2442  
 剪切池 440  
 减毒活疫苗 2308  
 简单低共熔混合物 427  
 简单凝聚 993  
 简单蒸馏 2200  
 简谐波 2555  
 简要新药申请 382  
 浆法 1120  
 交叉耐受性 1930  
 交叉设计 1790, 1825  
 交叉依赖性 1930  
 交互式语音 (IVR) 系统 2548  
 交联聚维酮 39, 288  
 交联羧甲基纤维素 2338  
 交联羧甲基纤维素钠 38, 288  
 胶浆剂 648  
 胶囊 290, 320, 641, 1471, 1866, 2332, 2333  
 胶囊型脉冲制剂 2043  
 胶凝点 979  
 胶乳敏感性 2472  
 胶塞的表面改性 2473  
 胶塞的灭菌 2468  
 胶束 2147  
 胶束化 785

- 胶体 669, 2685  
 胶体制剂 291, 822  
 胶体矿物 670  
 胶体磨 738  
 胶体释药系统 673  
 胶原 981, 2672  
 胶原敷料 1225  
 胶原罩 2049  
 胶质 755  
 焦亚硫酸钠 2608  
 角叉菜胶 147, 982  
 矫味剂 291, 292, 787, 1012, 1481  
 接触角 1682, 2048  
 洁净室 34  
 结肠定位给药 1366, 2000, 2019  
 结构异构体 2290  
 结合反应 1833  
 结合水 1711  
 结晶 679, 717, 882, 2202, 2483  
 结晶度 883, 1537  
 结晶溶剂 717  
 颌草 1388  
 解吸 1711  
 金属氧化物半导体场效应晶体管 1872  
 近红外光谱 461, 695  
 近紫外 1287, 1288  
 浸膏剂 645  
 浸渗敷料 1224  
 浸析 2213  
 浸渍 2213  
 禁食 1607  
 经皮给药 219, 704, 1350  
 经皮控释治疗系统 1982  
 经皮脉冲离子导入系统 1993  
 晶核形成 680, 682  
 晶粒间腐蚀 2559  
 晶癖 663, 715  
 晶体 686  
 晶型 686, 2483  
 精氨酸 365  
 精馏 2200  
 精密度 1168  
 精确性 1404  
 径向分层 236  
 竞争性方式分层 237  
 静脉滴注 1256  
 静脉给药 214, 965, 1861, 2606  
 静脉注射 1059, 1256, 1302  
 静脉注射液塑料容器 2608  
 静态淬灭 477  
 静态流动 436  
 酒剂 656  
 酒石酸 289, 1008, 1487  
 局部释药 1598  
 咀嚼片 289  
 锯草 1387  
 聚(1, 3-二对羧基苯氧基丙烷) 2675  
 聚D, L-丙交酯 2670, 2672, 2674  
 聚L-丙交酯 758  
 聚L-丙交酯-乙交酯共聚物 758  
 聚氨基酸 2672  
 聚氨基酯 2465  
 聚丙交酯 994  
 聚丙烯酸 754, 755  
 聚丙烯酰胺 754, 755, 756, 986  
 聚对苯二甲酸 2675  
 聚对苯二甲酸酐 758  
 聚对二氧环己酮 758  
 聚对二氧环己烷 758  
 聚二甲基硅氧烷 1012  
 聚二氧环己酮 2672, 2674  
 聚富马酸 2675  
 聚癸二酸 2675  
 聚癸二酸酐 758  
 聚合酶链式反应 1238, 1241, 1431, 1433  
 聚合膜、骨架联用型给药系统 1984  
 聚合物骨架型扩散控释给药系统 1983  
 聚合物膜控型给药系统 1981  
 聚合物泡沫敷料 1222  
 聚环氧乙烷 754, 755  
 聚集多形态 1764  
 聚己内酯 758, 2050, 2672, 2674  
 聚甲基丙烯酸酯 290, 764  
 聚甲基氨基丙烯酸酯 757  
 聚间苯二甲酸 2675  
 聚赖氨酸 754, 755  
 聚磷酸酯 2672, 2678  
 聚腈腈 2672, 2677  
 聚腈酸酯 2672, 2678  
 聚醚砜 518  
 聚醚酯 757  
 聚偏二氯乙烯 518  
 聚羟基丁酸酯 757, 2672, 2674  
 聚羟基丙烯酸甲酯 754  
 聚 $\beta$ -羟乙基甲基丙烯酸酯 755  
 聚羟乙酸 376  
 聚乳酸 376, 2050  
 聚三亚甲基-二对氧苯甲酸酐 758  
 聚山梨酯 292, 838, 1142, 2608  
 聚四氟乙烯 518  
 聚酸酐 376, 2050, 2672, 2675  
 聚碳酸丙二酯和乙交酯共聚物 758  
 聚糖肝敷料 1223  
 聚烷基氨基丙烯酸酯 2050  
 聚酰胺 2672  
 聚亚磷酸酯 2672, 2678  
 聚氧乙烯(PEO)聚合物 861  
 聚氧乙烯蓖麻油 EL 361  
 聚氧乙烯山梨醇单油酸酯 2608  
 聚乙醇酸 2050  
 聚乙二醇 289, 360, 365, 765, 861, 1011, 2608  
 聚乙二醇甘油酯 862  
 聚乙交酯 758, 2670, 2672, 2674,  
 聚乙酸乙烯酯 290  
 聚乙烯 290  
 聚乙烯吡咯烷酮 288, 361, 365, 755, 764  
 聚乙烯醇 289, 754, 755, 986, 2049  
 聚异戊二烯胶 2465  
 聚原酸 2672  
 聚原酸酯 2050, 2676  
 聚酯 2670, 2672, 2674  
 绝对生物利用度 1821  
 均聚物 2672  
 均相电流免疫测定法 1877  
 均一成核 682  
 均匀腐蚀 2558  
 均匀系数 438  
 均质化 735  
 K  
 卡波姆 985  
 卡瓦胡椒 1386  
 抗坏血酸 2608  
 抗坏血酸盐 363, 2649  
 抗黏剂 765, 919, 1687  
 抗凝剂 919  
 抗体 2343  
 抗体片段 2343  
 抗压试验 768  
 抗氧剂 291, 362, 788, 1131, 2093, 2466, 2645, 2647, 2608  
 抗药抗体 931  
 抗原性试验 152

- 抗原致敏性试验 1744  
 抗肿瘤药 275  
 颗粒剂 287, 646, 1471  
 颗粒磨 612  
 壳多糖 757  
 壳聚糖 274  
 可见-紫外光谱 275  
 可可脂 293  
 可生物降解聚合物 2670, 2672, 2674  
 可生物吸收聚合物 754  
 克隆 1239, 1949  
 空调 2200  
 空间效应 554  
 空气动力学直径 200, 747, 2276  
 空气压力喷雾器 2272  
 空气助流式滚圆机 2458  
 空腔腐蚀 2558  
 空腔泡沫敷料 1222  
 控释制剂 1123, 1867, 1981, 1984, 2016, 2079  
 口服给药 171, 216, 333, 968, 1062, 1299, 1356, 2012, 2324  
 口含片 289  
 口腔给药 666, 1861  
 口腔黏膜给药 172, 1369, 1374, 2030  
 库仑滴定 107  
 扩散试验 522
- ### L
- 拉紧 1681  
 蜡 290, 792  
 蜡剂 642  
 赖氨酸 1805  
 篮法 1119  
 老年人用药 294, 801  
 酪氨酸 1806  
 雷诺数 2178  
 类胡萝卜素 2648  
 类黄酮 2651  
 类维生素 A 2649  
 类脂 816  
 类脂剂型 821  
 类脂质体 1973  
 冷冻断裂技术 2115  
 冷冻干燥 680, 827, 847, 1423, 2207, 2090  
 冷冻制丸法 2460  
 冷却 859  
 冷霜 292  
 冷原子法 489  
 离浆 980  
 离散变量 1404  
 离析 332  
 离线清洁 1229  
 离心 234  
 离心过滤 2204  
 离子导入 188, 869  
 离子导入激活型给药系统 1993  
 离子对 2021  
 离子对色谱 1165  
 离子感应场效应晶体管 1872  
 离子激活型给药系统 1994  
 离子交换 2574  
 离子交换色谱 1165  
 离子交换树脂 1488  
 离子色谱 1165  
 离子选择性电极 (ISE) 1872  
 理论塔板数 1163, 1172  
 立体构型异构 2290  
 立体化学转化 1836  
 立体异构 1310  
 粒径分布 331, 742  
 连续变量 1404  
 量子力学 625  
 料斗设计 435  
 邻苯二甲基醋酸纤维素 290, 755, 756  
 邻苯二甲酸醋酸纤维素酯 764  
 邻苯二甲酸二乙酯 765  
 邻苯二甲酸聚乙炔乙酸酯 764  
 邻苯二甲酸羟丙甲纤维素酯 764  
 临床试验药品 911  
 临床数据管理系统 889  
 临床研究 1788  
 临床药代动力学 896  
 临床用药品 911  
 临界胶束浓度 1681  
 临界相对湿度 1890  
 磷光 475, 476  
 磷酸二钙 288  
 磷酸硫化寡聚核苷酸 1431  
 磷酸钠 1009  
 磷酸氢钙 2420  
 流变学 606, 980, 2440  
 流出角 436  
 流动度 2441  
 流动相 1151, 1166, 1169  
 流动性 432, 2337  
 流动注射再生的表面免疫测定法 933  
 流化床 763, 917  
 流化床包衣 862  
 流化床干燥 416  
 流化床干燥机 1038  
 流化床制丸 2455  
 流计数器 748  
 流浸膏剂 645  
 流能磨 585  
 流体动力伏安法 1872  
 流体动力学压力激活型给药系统 1991  
 流体流动 2176  
 流体学 2117  
 流通池法 1122  
 流延薄膜 611  
 硫化促进剂 2466  
 硫化剂 2466  
 硫化学发光检测器 1175  
 硫唑嘌呤 273  
 漏斗流 434  
 卤丁基胶 2465  
 滤网截留和吸附络合截留 520  
 露点 2201  
 绿茶 1386  
 氯丁胶 2465  
 氯化钠 288, 365, 836, 1487  
 氯化钠当量法 2382  
 氯甲酚 292, 363  
 卵磷脂 292, 361, 376, 1503  
 络合滴定 104  
 络合法 275, 2608  
 络合作用 550
- ### M
- 麻黄 1386  
 马丁德尔大药典 2131  
 马氏体钢 2562  
 吗啡寡聚体 1431  
 麦芽糊精 114  
 麦芽糖 365  
 脉冲给药系统 2039  
 漫反射光谱 466  
 莽草酸 1798  
 毛细管电泳 1252  
 毛细管电泳免疫测定法 933  
 没食子酸丙酯 363  
 酶 1795  
 酶电极 1876

酶反应器 1875  
 酶激活型给药系统 1994  
 酶解型聚合物 2005  
 酶联电化学技术 1875  
 酶联免疫测定法 923, 929, 952  
 酶联免疫吸附测定法 923  
 酶联免疫吸收分析 1251  
 酶血液凝素因子 1243  
 酶增殖免疫测定技术 1877  
 美国药典 16, 385, 1065, 1467, 1632, 1654, 1665, 1710, 2131, 2166, 2573  
 美国专利和商标局 2133  
 蒙脱石黏土 986  
 密度 2267  
 棉籽糖 840  
 棉籽油 2608  
 免疫测定法 923  
 免疫电极 1877  
 免疫调节 2316  
 免疫毒性试验 1746  
 免疫放射分析法 951  
 免疫分析 950, 1251  
 免疫结合物 2344  
 免疫微球 2351  
 免疫脂质体 2349  
 灭菌 1470, 2212  
 灭菌后可用胶塞 (RtS) 2468  
 灭菌注射用水 2608  
 明胶 288, 289, 365, 754, 757, 982, 993, 1142, 2332, 2672  
 明胶制剂 525  
 模型拟合 2191  
 模制片 289  
 模制容器 1652  
 膜电极 120  
 膜滤器 517  
 膜泡转运 1258  
 膜渗透法 554  
 摩擦腐蚀 2558  
 摩尔取代度 551  
 默克索引 2131  
 木糖醇 2420

## N

纳滤 517  
 纳米混悬剂 591  
 纳米粒 961, 1423, 1868  
 纳米囊 961

纳米球 961  
 纳米乳 1145  
 纳米微粒 673  
 钠钙玻璃 1650  
 耐腐蚀性 1653  
 耐用性 1169  
 囊泡 1488, 1973  
 内标法 1178  
 内聚拱 434  
 内聚力 438  
 内流角 438  
 内切酶 1431  
 内转化 251  
 内转换 475  
 尼泊金乙酯 2608  
 尼龙 518  
 泥敷剂 641  
 逆转录酶 1431  
 黏冲 1014  
 黏弹性 1342, 2444  
 黏度 2441  
 黏附性 769  
 黏附性水凝胶 1349  
 黏合剂 320, 1012, 1022, 2503  
 黏膜给药 171  
 黏膜黏附 2019, 2098  
 鸟氨酸 1805  
 尿素 861  
 柠檬酸 289, 861, 1487  
 柠檬酸三乙酯和四乙酯 765  
 凝沉 979  
 凝胶 976  
 凝胶给药系统 1599  
 凝胶剂 6, 292, 646, 822, 1473, 2063  
 凝胶渗透色谱 1166  
 凝结 587  
 凝聚 990, 1422  
 牛顿流体 2441  
 浓度极化 2560

## O

欧盟 1003  
 欧洲药典 1632, 1641, 1654, 1665, 2131  
 欧洲药品评价委员会 1004, 1066  
 欧洲专利局 2133

## P

排泄 802

盘架式干燥 415  
 抛射剂 133, 293, 2276  
 泡核沸腾 2182  
 泡沫剂 1686, 2063  
 泡沫凝胶 1222  
 泡腾反应 1008  
 泡腾粉末 334  
 泡腾片 289, 1008  
 泡腾制剂 1008, 1014  
 培养基 1439, 1443  
 配电系统的接地 2556  
 配合作用 2149  
 喷气式撞击器 749  
 喷雾包衣法 1421  
 喷雾冻结法 781  
 喷雾干燥 391, 399, 585, 797, 1422, 2207, 2519  
 喷雾干燥喷雾凝结 2460  
 喷雾干燥乳糖 287  
 喷雾剂 293, 654, 2235  
 喷雾冷冻干燥 399  
 喷雾凝结 797, 862, 864  
 硼硅玻璃 1651  
 硼硅酸盐 518  
 碰撞黏附试验 769  
 皮肤过敏性试验 1744  
 皮肤用脂质体 1973  
 皮下控释植入剂 1989  
 皮下植入剂 1984  
 皮下注射 1256, 1301  
 片剂 287, 320, 655, 720, 823, 1018, 1034, 1471, 1558, 1687, 1866, 2264, 2514  
 片剂处方 1018  
 片剂强度 1045  
 偏振光学显微镜法 2114  
 漂白剂 1597  
 平板型剪切池 441  
 平衡水分含量 1711  
 平衡透析法 1752  
 平行设计 1790  
 评价机构 1004  
 苹果酸 1487  
 破裂力 980  
 葡聚糖类 2421  
 葡萄糖 288, 365, 1487, 2421  
 葡萄籽 1386

## Q

气动采样器 743

- 气溶胶 51, 2270  
 气雾剂 293, 639, 1686, 2235  
 气相色谱 1171, 1247, 1702  
 起泡点试验 522  
 牵制流 1095  
 前体药物 664, 785, 821, 1049, 2003, 2020  
 前药的化学活化 1050  
 潜溶 784, 1054  
 潜溶剂 717, 784, 1054, 2142  
 嵌合抗体 2343  
 强度光散射法 671  
 羟丙基- $\beta$ -环糊精 376, 555  
 羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯 756  
 羟丙纤维素 754, 756, 764, 920, 984  
 羟丙甲纤维素 755, 756, 764, 861, 984, 2332  
 羟丙甲纤维素乙酸琥珀酸酯 764  
 羟基丁酸酯 292  
 羟乙基淀粉 365, 838  
 羟乙基甲基丙烯酸酯 2048  
 羟乙基纤维素 292, 754  
 羟乙酸淀粉钠 114, 2338  
 侵蚀性腐蚀 2558  
 亲和色谱 1165  
 亲水-亲油平衡 (HLB) 1135  
 亲脂性测定 1154  
 青霉素 275  
 青霉素 1796  
 氢氟烷 134  
 氢化蓖麻油 862  
 氢氧化铝 986  
 倾角 436  
 清洁工序 1229  
 清洁剂 1231  
 清洁验证 1229, 1233, 2431  
 聚丙烯酸丁酯 1225  
 聚丙烯酸异丁酯 1225  
 氨基丙烯酸酯 1225  
 琼脂 756  
 球形结聚法 2459  
 区带观察 1152  
 取代度 552  
 取样 240, 742  
 取样器 240, 340  
 龋齿 1590  
 去氧胆酸钠 361  
 全氟代溴辛烷 1502  
 全氟碳 376, 1498, 1503  
 群体药动学研究 1607  
 R  
 染色体组学 1238  
 热传递 410, 2180  
 热导检测器 1173  
 热分析 1767  
 热固定型橡胶 2466  
 热机械分析 1074  
 热离子检测器 1173  
 热力学 879, 884  
 热溶定律 1763  
 热熔挤出 1094  
 热塑型橡胶 2467  
 热显微镜法 1075  
 热向性液晶 2111  
 热原 1108, 1669, 2091  
 热运动 671  
 热重分析法 1073, 1714  
 人参 1386  
 人血清蛋白 2672  
 人用药品评价机构 1004  
 人源抗体 2343  
 日本卫生福利省 1066  
 日本药典 1628, 1632  
 容量常数 1753  
 溶出 1261, 1265, 2337  
 溶出度 424, 428, 532, 557, 721, 1118  
 溶出度试验 1118, 1263, 1825, 2550  
 溶出介质 1123  
 溶出曲线 1120  
 溶出速率 662  
 溶出仪 1119  
 溶剂沉淀 400  
 溶剂化多态现象 1764  
 溶剂挥发法 1422  
 溶解度 663, 1054, 1265, 2136  
 溶蚀降解 2670  
 溶液/混悬液上药 2456  
 溶液剂 654, 783, 1472, 1866, 2078  
 溶解 881  
 熔融 426, 779  
 熔融法制粒 1011  
 熔融-分散技术 796  
 熔融-挤出 863  
 熔融-凝缩技术 864  
 熔融造粒法 779  
 熔融制丸法 2460  
 融合 6  
 肉豆蔻酸异丙酯 1459  
 蠕变试验 2445  
 乳膏 292, 2063, 2120  
 乳膏剂 1, 643, 822, 1473  
 乳化剂 3, 292, 361, 1129, 2608  
 乳剂 292, 644, 1127, 1473, 1500, 1685, 2090, 2122, 2266, 2450, 2687  
 乳胶液 670  
 乳内制剂 1305  
 乳糖 322, 365, 861, 2159, 2337, 2421  
 乳糖醇 2420  
 $\alpha$ -乳糖-水合物 288  
 软膏 2, 1686, 2120  
 软膏剂 1, 292, 649, 822, 1473, 2266  
 软化点 1652  
 软胶囊 290, 529, 641, 1141  
 润滑剂 287, 291, 320, 435, 589, 1022, 1011, 1038, 1131, 1687, 2507  
 S  
 噻汞敏 363  
 三联体密码 1431  
 三氟生 1594  
 三氧化二铁 290  
 三元乙丙胶 2465  
 三轴剪切试验仪 442  
 散剂 287, 652  
 扫描电子显微镜 671  
 扫描透射电子显微镜 2501  
 色甘酸二钠 2119  
 色谱系统 2549  
 色谱柱 1163, 1175  
 色散型红外光谱仪 453  
 杀菌剂 1659  
 筛板挤出机 613  
 筛分 744, 2209  
 山梨醇 290, 361, 365, 838, 1131, 1487, 2160, 2420  
 闪烁检测仪 252  
 商标 2627  
 舌下给药 2033  
 舌下片 289  
 设备清洁 1229

- 射出成形 611, 1096  
 $\gamma$  射线闪烁扫描技术 2238  
 伸长率 767  
 深层过滤器 517, 2574  
 审批后的变更 1068  
 肾消除 1755  
 肾小球滤过率 1755  
 肿凡纳明 2119  
 渗透泵给药系统 290  
 渗透促进剂 821  
 渗透压调节剂 365  
 渗透压激活型给药系统 1989  
 渗透作用 671  
 生长因子白细胞介素 1242  
 生姜 1385  
 生物标记 929  
 生物产品 1238  
 生物传感器 1346  
 生物等效性 246, 383, 1264, 1266, 1788, 1821, 1975  
 生物发生 1794  
 生物敷料 1225  
 生物合成 1794  
 生物技术 276, 1238  
 生物技术制剂 1474  
 生物利用度 245, 383, 557, 1255, 1264, 1822, 1824, 1826  
 生物黏附 2098, 1371  
 生物溶蚀调节型给药系统 1995  
 生物体鉴别 1432  
 生物体液分析 1246  
 生物响应型给药系统 1995  
 生物信息学 1939  
 生物验证 2394  
 生物药剂学 1255  
 生物药剂学分类系统 1020, 1265, 1822  
 生物医药分析 1246  
 生药学 2246  
 生育酚 363, 2649  
 生育力试验 1741  
 生殖安全性 564  
 生殖毒理 150, 1741  
 圣约翰草 1387  
 失效期 1065, 1068  
 湿度比 414  
 湿度测定 2201  
 湿法制粒 287, 1011  
 湿法制粒压片法 1035, 2415  
 湿空气动力学 414  
 湿热灭菌法 2212  
 湿润剂 292, 361  
 十八醇 292  
 十二烷基-N, N-二甲氨基异丙酸酯 1970  
 十二烷基硫酸镁 289, 1011  
 十二烷基硫酸钠 288, 289, 361, 1011  
 十六醇 292  
 石墨炉法 489  
 时辰药理学 2039  
 时间分辨荧光免疫分析法 955  
 时控触发型释药系统 2004  
 时控给药系统 2039  
 实验动物 283  
 实验室控制 914, 1700  
 食品 544  
 食品药品监督管理局 (FDA) 380  
 世界卫生组织 1277  
 手性 2291  
 手性固定相 2302  
 手性光学 1280, 1285, 1286  
 手性物质 1280  
 首过肠代谢 2015  
 首过代谢 904, 1864, 2032  
 首过肝脏代谢 2015  
 首过效应 904, 1298, 2081  
 受控生产过程 156  
 受体 1942  
 受体亚型 1948  
 兽药 1466  
 兽医用药 2065  
 兽用剂型 1294, 1474  
 叔丁对甲氧酚 292  
 叔丁基对羟基茴香醚 362, 1131  
 疏水作用色谱 1165  
 输液泵 2610  
 输液装置 2606, 2610  
 树枝大分子包合 1327  
 树脂 2004  
 树状大分子 1321, 1330  
 数据模拟 2190  
 数学模型 2188  
 漱口剂 291, 1593  
 衰变常数 250  
 衰减全反射光谱 457  
 栓剂 293, 612, 654, 1124, 1472, 1687, 2063, 2078  
 双剂量给药装置 1960  
 双抗体技术 951  
 双室青霉素瓶系统 2609  
 双特异性抗体 2344  
 双重不锈钢 2563  
 双轴测试仪 442  
 水飞蓟素 1387  
 水分 1710  
 水化激活型给药系统 1993  
 水胶体敷料 1224  
 水解 1832, 1839  
 水解激活型给药系统 1994  
 水解明胶 361  
 水凝胶 977, 1222, 1339, 2006, 2100  
 水凝胶片 1223  
 水平鼓式混合器 233  
 水侵入试验 523  
 四极杆质谱 1707  
 松果菊 1384  
 速发型过敏反应 1972  
 速释制剂 2016  
 塑料 610, 2565, 2571, 2609  
 酸化剂 129  
 髓鞘内给药 1860  
 羧甲基淀粉钠 38, 288  
 羧甲基环糊精 556  
 羧甲基纤维素 754, 755  
 羧甲基纤维素钠 288, 292, 361, 764, 983, 1130  
 T  
 塌陷温度 836  
 坍塌 233  
 碳糊电极 1873  
 碳酸钙 1009  
 碳酸钾 1009  
 碳酸钠 1009  
 碳酸氢钾 1009  
 碳酸氢钠 1009  
 碳酸氢盐 289  
 碳酸盐 289  
 汤剂 643  
 糖锭剂 643  
 糖膏剂 643  
 糖浆剂 291, 654  
 糖精 787, 1487, 2160  
 糖衣片 529  
 淘析器 749



特异质反应 1727

梯流 234

提取 2213

体积排阻色谱 1166

体内生物等效性 424

体内外相关性 1123, 1265

体外毒性研究 1745

替代疗法 2244

替代药物 1381, 2244

替代医疗 1381

替代制剂 1821

天冬氨酸 365

天冬酰胺 365

天然橡胶 2465

甜味剂 320, 786, 1012, 1470, 1487

填充层池 1874

填充剂 837, 2466, 2503

条例优先权 2628

调剂 1465

调剂设备 1469

调节剂量 1783

调频光谱 1704

调制管理规范 1468

茛 1459, 1801

铁素体不锈钢 2562

同质异能转换 251

统计过程控制 1394

透明质酸 755, 756, 757, 982, 1226, 2672

透皮促渗剂 1970

透皮给药 174, 185, 666, 870, 1861, 1969

透皮贴剂 1125, 2121

透皮吸收 209, 1311

透气薄膜 1221

透射电子 2500

透射电子显微镜 671, 2115, 2501

涂擦剂 647

吐温 80 361

吐温 20 361

退火 1652

褪黑激素 1387

吞噬 1258

脱玻现象 1647

脱氢表雄酮 1384

脱水山梨糖醇酯 292

脱乙酰壳多糖 2672

脱脂麦斯林纱 1220

脱脂棉吸收剂 1220

## W

外包 58, 1844, 2485

外标法 1154, 1178

外观设计权 2627

外科吸收剂 1220

外肽酶 1359

丸剂 2512

完整性试验 19, 521, 1479

网状内皮系统 673

往复管法 1122

危险化学品 1416

微波干燥 418

微储库分配控释给药系统 1987

微粉硅胶 287

微粉化 391, 584, 1129

微剂量片 294

微晶纤维素 288, 289, 292, 2158, 2337, 2419

微孔过滤 517

微粒释放试验 521

微量电泳 2683

微量热法 554, 884, 1073, 1080

微囊 796, 920, 995, 997, 1421

微球 289, 673, 997, 1364, 1420, 2671

微乳 5, 673, 1127, 1136, 1145, 1686, 2450, 2610

微生物 1108

微生物监控 17, 156

微生物检测 1433

微生物控制 1665

微生物限度试验 16, 19, 1670

微透析法 1752

微针 1974

维持剂量 1777

维生素 C 1009

维生素 E 2649

伪多晶态 1079

胃肠运动 2013

胃排空 1259, 1862, 2325

胃滞留系统 2018

文档管理 1449

稳定剂 839

稳定性试验 1065

稳态表观分布容积 1754

无定形沉淀 428

无定形水凝胶 1223

无定形态 1079

无菌 913, 1665, 2091

无菌保证水平 1667

无菌操作 23, 1425, 1438

无菌灌装 1440, 1476, 1478

无菌规范 2391

无菌过滤 2213

无菌结晶技术 2090

无菌生产 1438, 2231

无菌试验 16, 19, 1665

无水乳糖 287

无针注射 1974, 2610

无纸文档系统 1448

物理靶向 2348

雾化剂 388

## X

西黄蓍胶 288, 291, 292

西林瓶 2608

吸附 1681, 1710

吸附等温线 1711

吸附剂 287, 1711

吸管剂 1958

吸入给药 399, 1861, 1963, 2270

吸入剂 646

吸人性溶液剂 1473

吸湿等温曲线 1887

吸湿性 1890

吸收 801, 1710, 1864

吸收促进剂 200, 1459, 1867, 2021, 2084, 2156

吸收电子 2501

吸水性 1887

吸油量 2267

吸着剂 1711

稀释剂 287, 320, 1035, 2416

洗剂 291, 648, 822

系统适用性试验 306

细胞治疗 1238, 1241

细菌内毒素 19, 1108, 1111, 1669

细菌挑战性试验 520, 1479

细菌抑制 1659

先导优化技术 1919

纤维性吸收剂 1220

现场清洗 1478

线性 1169, 1413

相对生物利用度 246, 1821

相对湿度 414, 1890

相分离 990

相溶解度法 553

相图 860  
相转变 413  
相转变温度法 1135  
香料 1470, 1481  
香味 1481  
项目管理 1490, 2548  
橡胶 137, 610, 1342, 2095, 2565  
橡皮膏剂 651  
消毒剂 1659  
消泡剂 1012  
消旋化 2291  
消旋体 2291  
硝酸锶 1973  
硝酸纤维素 518  
小分子免疫测定验证 930  
小容量注射剂 2088, 2095, 2606  
校正片 1122  
协同转运 1865  
新药申请 382  
性能确认 1233, 2425  
休止角 436, 438  
酞剂 291, 654  
絮凝 586, 1132, 1133, 2688  
絮凝剂 589  
旋风分离器 749  
旋光测定 1280  
旋光色散 1280, 1281  
旋转齿轮挤出机 614  
选择性浸出 2558  
雪花膏 292  
血根碱 1594  
血管输入装置 2606  
血红蛋白 1513, 1514  
血液替代品 1498, 1513

## Y

压大片法 2486  
压裂比 438  
压力流 1095  
压力维持试验 522  
压片 1013, 1546, 1558  
压片机 1546, 1560  
压缩系数 437  
牙膏 1592, 1595  
牙科用品 1590  
亚单位疫苗 2309  
亚急性、亚慢性和慢性毒性试验 1739

亚硫酸氢钠 2608  
亚慢性和慢性毒理 149  
延迟释放制剂 289  
延缓制剂 1123  
延展性权利要求 2637  
掩味 864  
眼部给药 172, 219, 666, 969, 2103, 2048  
眼膏剂 649  
眼用控释植入剂 1982  
眼用溶液剂 654  
眼用软膏 2  
眼用制剂 1062, 1473, 2088  
杨氏模量 2441  
杨氏系数 767  
氧化 1830  
氧化-还原滴定 102  
氧化还原检测器 1175  
氧化铁 765  
药代动力学 907, 1606, 1788, 2061, 2189  
药典标准 1628, 1641  
药典的协调 1633  
药动学 1780, 2126, 2297  
药理基因组学 1939  
药品 245, 544  
药品的保存 1658  
药品临床试验管理规范 1692  
药品生产质量管理规范 15, 1697  
药品主文件 1723  
药物 245, 1416  
药物安全性评价 1736  
药物不良反应 803, 915, 1727  
药物不耐受 1727  
药物成瘾性 1928  
药物代谢 211  
药物蛋白结合率 1752  
药物的暴露程度 902  
药物的分布容积 900  
药物的临床评价 1786  
药物的清除率 897  
药物的生物转化 1829, 2298  
药物动力学 246, 801, 2549  
药物分布 210, 900  
药物降解 1771  
药物开发 1490, 1900, 1910, 1918, 2476  
药物滥用 1927  
药物设计 73, 1935

药物输送 1347, 1957, 1969, 1981, 2000, 2012, 2030, 2039, 2048, 2056, 2078, 2088, 2098, 2111, 2324, 2343  
药物索引 2131  
药物稳定性 1061  
药物吸收 1261, 1860, 2031  
药物相互作用 805, 1758, 1788, 2125  
药物信息 2131  
药物研发 623, 1787  
药物遗传学 906  
药物治疗错误 2166  
药效的耐受性 897  
药效试验 1789  
药效学 802, 896, 1783  
药效学相互作用 2126  
药理学数据 2188  
药用辅料 2219, 2224  
夜来香油 1385  
液晶 2114, 2117  
液态晶体 2450  
液体闪烁体 253  
液体填充 2336  
液体制剂 290, 783, 2122  
液雾剂 2270  
液向性液晶 2112  
液质联用 1251  
液状石蜡 2, 289  
医疗保健体制 936, 944  
医师的案头参考 2131  
依从性 2441  
依数性 2376  
仪器化 1566  
酞剂 291, 644  
胰液 1863  
遗传因素 1910  
乙醇 287, 290, 1062, 1459, 2608  
乙二胺四乙酸盐 2608  
乙二醇 765  
乙基丙烯酸和甲基烯酸甲酯共聚物 862  
乙基纤维素 274, 289, 756, 764, 993  
乙交酯/1, 5-二噁庚烷-2-酮共聚物 758  
乙交酯/环丙烷碳酸酯共聚物 758  
乙交酯/ε-己内酯共聚物 758  
乙交酯和聚对苯二羟乙酸乙二酯共聚物 758

- 乙酸酯 518  
 乙烯-丙烯酸 2465  
 乙烯-乙酸乙烯共聚物 1982  
 乙酰化反应 1835  
 异丙醇 287, 290  
 异构体 2290  
 抑菌剂 1658, 1659  
 易化扩散 1865  
 疫苗 2307  
 阴道给药 173, 1862, 2104, 2056  
 阴道制剂 2063, 2066  
 银杏 1385  
 引温性 1711  
 引物 1431  
 饮剂 291  
 隐形眼镜 726, 1344  
 应变点 1652  
 应急电源 2555  
 应力 2440  
 应力裂缝腐蚀 2559  
 应力-张力应变试验 767  
 英国国家处方集 2131  
 英国药典 1665, 2131  
 荧光 475  
 荧光淬灭 1706  
 荧光法 554  
 荧光检测器 1167  
 荧光免疫分析 954, 1251  
 荧光偏振免疫分析 954  
 荧光效率 476  
 荧光原位杂交 1432  
 营养补充品 1382  
 硬度系数 2441  
 硬胶囊 290, 527, 794, 2265, 2332  
 硬胶囊剂 1687  
 硬脂酸 289  
 硬脂酸钙 289  
 硬脂酸镁 287, 289, 435, 1011, 2339  
 硬脂酸钠 1011  
 硬脂酰富马酸钠 289, 1011  
 油膏剂 2266  
 油剂 649  
 游离水 1711  
 有效期 548, 1469, 2549  
 右旋葡萄糖 287  
 右旋糖酐 754, 756, 2672  
 鱼精蛋白硫酸盐 757  
 预混剂 2609  
 预胶化淀粉 288, 2421  
 预验证 2424  
 预装注射器系统 2609  
 原位泡沫 1222  
 原子吸收光谱法 488  
 圆二色谱法 275, 554  
 圆二色性 1280, 1282  
 圆盘-模具挤压机 612  
 圆盘撞击器 53  
 圆形或环形剪切池 441  
 运动学黏度 2441  
 运行确认 620, 1233, 2425
- ### Z
- 再验证 2424  
 在线清洁 1229, 1230, 2490  
 在线蒸汽灭菌 1478  
 藻酸盐 288, 291, 754  
 皂土 291, 292  
 造粒 863  
 增稠剂 292, 589, 733, 788  
 增溶 1327, 2136  
 增溶剂 135, 361, 1684, 2085, 2092  
 增塑剂 765, 919, 1097, 1142  
 增味剂 1487  
 展膏剂 648  
 张力 2375, 2440  
 张力调节剂 733, 2094  
 张力速率 2440  
 召回程序 1677  
 遮光剂 1142  
 遮味剂 1487  
 折光检测器 1167  
 蔗糖 129, 287, 288, 365, 787, 840, 1487, 2160  
 蔗糖乙酸异丁酸酯 376  
 真空干燥 418  
 振动弛豫 475  
 振动膜喷雾器 2284  
 振实堆密度 437  
 蒸发 2198, 2384  
 蒸发光散射检测器 1168  
 蒸馏 2199, 2575  
 蒸汽压激活型给药系统 1992  
 蒸汽蒸馏 2199  
 蒸汽灭菌法 1668, 2391  
 正电子发射断层成像术 254  
 正链 1431  
 正相色谱 1163  
 芝麻油 2608  
 知识产权 2627  
 脂多糖 1109, 1669  
 脂肪酸 1796  
 脂肪酸二聚体-癸二酸共聚物 2675  
 脂质分散体 2120  
 脂质体 673, 1364, 1868, 1686, 2112, 2689  
 脂质体免疫分析法 957  
 直肠给药 173, 210, 219, 666, 1124, 1366, 1862, 2078  
 直接可逆的药理应答 1780  
 直接压片 1011, 1041, 2265, 2415  
 直链淀粉 287, 755  
 职业接触浓度 1419  
 植入剂 794, 2524, 1982  
 植物 2243  
 植物药 2244  
 纸色谱法 554  
 指示电极 1870  
 制菌注射用水 2608  
 制粒 918, 1013, 1036, 2487  
 制丸技术 2454  
 制药经济学 1603  
 制药设备 2557, 2568  
 质量保证 282, 1673, 2410  
 质量传递 2184  
 质量计划过程 2412  
 质量控制 15, 912, 2410  
 质量迁移 412  
 质量体系 2410  
 质量中间直径 390  
 质谱 74, 494, 1795  
 治疗指数 897  
 治疗置换 248  
 致癌 151, 564, 1743, 2652  
 致癌性试验 2399  
 致畸胎 1741  
 致突变 150, 564, 1740  
 中和滴定 101  
 中间相 2111  
 中试工厂 2581, 2592  
 中试生产 2427  
 重现性 1404  
 重组 DNA 1238, 1239  
 重组载体疫苗 2308  
 轴向分层 237  
 主动转运 1258  
 助流剂 287, 320, 435, 1038, 1687

- 助溶剂 360, 2089  
 助悬剂 292, 361, 589  
 注射给药 2088, 2605  
 注射剂 360, 646, 1062, 2613, 2604  
 注射剂包装 2608  
 注射剂胶塞 2467  
 注射用乳剂 1500  
 注射用水 2089, 2092, 2573, 2608  
 注射用油 2089  
 柱塞式挤出机 607  
 柱上进样 1174  
 专家系统 2359  
 专利 2627, 2636  
 专属性 304, 306, 1168  
 转磷法 1122  
 转动滤器固定篮法 1122  
 转基因 1238  
 转筒挤出机 613  
 转子-定子高压均质机 738  
 撞锤挤出机 615  
 准确度 1168  
 着色剂 129, 291, 292, 320, 545, 765, 787, 1012, 1142, 1470, 2253, 2259, 2466  
 资料与信息管理系统 2543  
 紫外分光光度法 554  
 紫外-可见光检测器 1167  
 自调节型给药系统 1995  
 自动进样 1174  
 自然老化 772  
 自氧化 1702, 2645  
 自由基 2646  
 组氨酸 365, 1817  
 组合化学 1238, 1241, 1936  
 组合生物合成 1795  
 组合有机合成 1936  
 组织黏合剂 1225  
 最大耐受剂量 1743, 1788  
 最优化方法 2658  
 遵从性 811  
 佐剂 147, 2311
- 其他
- Acutrim®片 1990  
 AeroDose 2284  
 AeroEclipse 2282  
 AERx 2282  
 AIR™颗粒 400  
 Alzet®渗透泵 1990  
 Andersen 惯性撞击器 142  
 Azone 1970  
 Beer-Lambert 506  
 BIOSIS 2132  
 Boots 系统 2360  
 Cadila 系统 2361  
 CAplus 2132  
 Capsugel 系统 2364  
 CBER 1723  
 CDER 1723  
 cDNA 1431  
 CDRH 1723  
 CELLEDIRM 1973  
 Cosmederm-7™ 1973  
 CRF 890, 1787  
 CSFAN 1723  
 CVM 1723  
 D, L-丙交酯-乙交酯共聚物 2670  
 DDAIP 1970  
 DLVO 理论 672, 1133  
 DMF 类型 1724  
 DNA 探针 1430, 1431  
 DNA 微阵列 1939  
 DNA 芯片 1939  
 DNA 疫苗 2310  
 dsDNA 1431  
 D 值 405  
 EDTA 275, 362  
 EMBASE 2132  
 Eudragit L 274  
 Eudragit L30D 919  
 Eudragit NE30D 919  
 Eudragit RL 919  
 Eudragit RS 919  
 Faraday-Tyndall 效应 671  
 FD&C 法案 2259  
 FDA 67, 153, 263, 544, 565, 618, 911, 1266, 1443, 1453, 1723, 1732, 1383, 2219, 2254  
 F<sub>H</sub> 值 405  
 Fick 扩散 2673  
 Fick 扩散定律 1257  
 Fluosol 1502  
 Formulogic 2359  
 Galenical 开发系统 2361  
 GCP 1674, 1678  
 GMP 911, 1229, 1676  
 HaloLite 2283  
 HBOC-201 1521  
 Hill 方程 896  
 Hovine FlowCaps® 402  
 HPE-101 1970  
 HPMC 288, 289  
 Innova™ 401  
 IPA 2132  
 Jenike 剪切池 441  
 Karl Fisher 滴定 1716  
 Macro-Derms 1972  
 Macroflux 1974  
 Medicaid 937  
 Medicare 937  
 MEDLINE 2131  
 Michaelis-Menten 方程 904  
 Mohr 圆分析 440  
 Nitro-Dur®系统 1984  
 N-甲基吡咯烷酮 1459  
 2- $\pi$ -壬烷基-1, 3-二氧戊环 1970  
 Ostwald 阶段定律 682  
 Oxygent AF0144 1504  
 PCR 1431  
 PDS 和 L-丙交酯的共聚物 758  
 PDS 和乙交酯的共聚物 758  
 PEG 365, 756, 1062, 1142  
 PEG 60 蓖麻油 361  
 PEG 40 蓖麻油 361  
 Pharm-line 2132  
 pH 调节剂 733  
 pH 激活型给药系统 1994  
 pH 敏感型水凝胶 1342, 1349  
 PLGA 376  
 PNA 寡聚体 1431  
 Polyolprepolymer 1972  
 Pulmosphere™ 400  
 QC 部门 1676  
 Randall-Selitto 分析 147  
 Respi-mat 2281  
 Sanofi 系统 2365  
 SEPA 1970  
 SkyePharma 401  
 Solo™ 401  
 Spiros® S2 402  
 Sprowls 法 2382  
 ssDNA 1431  
 S-腺苷甲硫氨酸 1387  
 Twisthaler® 402  
 USP 纯化水 2573  
 Van Deemter 方程 1172

White-Vincent 法 2382	X 射线晶体学 1935	X 射线衍射晶体学 1238
Wurster 包衣 2456	X 射线散射 630, 1766, 2115	Zeneca 系统 2366
X 射线粉末衍射法 1717, 1534	X 射线衍射法 865	ZETA 电位 2683
X 射线光子 2500		